



UNIVERSITE PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE : STITS

Laboratoire Charles Fabry

Laboratoire de Spectroscopie Atomique Moléculaire et Applications

*DISCIPLINE PHYSIQUE*

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 14/05/2013

par

Maha CHAMTOURI

Etude exhaustive de la sensibilité des Biopuces  
plasmoniques structurées intégrant un réseau  
rectangulaire 1D: effet de la transition des plasmons  
localisés vers les plasmons propagatifs

Composition du jury :

Président du jury :	M. Philippe BRECHIGNAC
Directeur de thèse:	M. Michael CANVA
Co-directeur de thèse :	M. Nejm-Eddine JAIDANE
Encadrant de thèse :	M. Julien MOREAU
Co-encadrant de thèse :	M. Hassen GHALILA
Rapporteur :	Mme Balkiss BOUHAOUALA
Rapporteur :	M. Guy LOUARN
Examineur :	M. Philippe GOGOL
Examineur :	Mme Zohra BEN LAKHDAR

---

*A mes parents que j'aime tant.*

---

## *Remerciements*

J'aimerais remercier ici tous ceux qui m'ont aidé durant ce travail de thèse.

Je souhaite tout d'abord remercier messieurs Pierre Chavel et Christian Chardonnet, directeurs du Laboratoire Charles Fabry de l'Institut d'Optique (LCFIO) pour m'avoir accueilli au sein de cet établissement durant ces quatre années de thèse. Je remercie également le Laboratoire Orsay-Tunis sur les Atomes, Molécules, Plasmas (LIA-LOTAMP) et l'université Paris-Sud pour avoir financé une partie de mon séjour en France.

Je remercie monsieur Phillipe Brechignac, directeur de l'Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury. Je remercie très sincèrement madame Balkiss Bouhaoula directrice du groupe d'ingénierie des anticorps du laboratoire des Venins et Toxines à l'institut Pasteur de Tunis et monsieur Guy Louarn, directeur adjoint de l'Institut Des Matériaux, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit. Merci pour l'intérêt que vous avez montré pour mon travail et votre appréciation. Mes remerciements respectueux s'adressent à madame Zohra ben Lakhdar fondatrice du Laboratoire de Spectroscopie Atomique Moléculaire et Applications d'avoir fait partie de mon jury comme examinateur. Vous êtes un exemple dont je suis fière de suivre. Vous m'avez transmis votre passion pour la recherche, votre vision très appliquée et très ouverte de la Physique que j'espère un jour la transmettre.

J'ai eu énormément de chance de travailler au sein d'une équipe exceptionnelle tant sur le point scientifique qu'humain.

Je remercie infiniment mon directeur de thèse monsieur Michael Canva directeur du groupe biophotonique qui m'a proposé un sujet à la fois pluridisciplinaire et passionnant. Je le remercie aussi pour m'avoir donné l'opportunité de travailler dans son équipe. Toute ma reconnaissance à son aide précieuse tout au long de ma thèse, ses conseils éclairés et ainsi que les discussions enrichissantes.

Je remercie mon co-directeur de thèse monsieur Nejmeddine Jaidane directeur du Laboratoire de Spectroscopie Atomique Moléculaire et Applications pour ces qualités humaines.

Je remercie mon co-encadrant de thèse, monsieur Julien Moreau. Un grand merci à toi Julien de m'avoir suivi pendant tout ce parcours. Tu étais toujours présent pour m'aider à maîtriser les outils expérimentaux et à surmonter les problèmes techniques. Tes questions pertinentes m'ont permis une meilleure compréhension des phénomènes physiques présents dans ce manuscrit.

Je veux aussi remercier monsieur Hassen Ghalila pour sa participation à mon co-encadrement, pour sa précieuse aide et ses innombrables conseils et suggestions.

---

Le bon déroulement de cette thèse a pris tout son sens avec les différents collaborateurs qui ont pu apporter leur contribution scientifique tant sur le plan théorique qu'expérimental.

Je remercie tout particulièrement, monsieur Mondher Besbes qui a eu un rôle essentiel dans le développement de modèle numérique permettant de modéliser les biopuces structurées étudiées dans cette thèse. Je le remercie surtout pour sa gentillesse et sa bonne humeur qui ont rendu ce travail particulièrement agréable.

Je tiens également à remercier madame Anne-Lise et Coutrot et Buntha Ea Kim pour leurs efforts dans les réalisations des échantillons structurés.

Ma reconnaissance va aussi à tous mes collègues et amis du groupe biophotonique : Arnaud Dubois, Keren Perronet, Nathalie Westbrook, Alexandra Sereda, Antoine Federici, Mitradeep Sarkar et Nicolas Fiszman. J'ai vraiment partagé de très bons moments avec eux que ce soit au déjeuner ou au café. Je garderais un excellent souvenir de nos nombreuses conversations et débats toujours constructifs. Merci Alex de me partager le même bureau et de créer une ambiance sympathique durant le travail. Un remerciement spécial à Masreshaw Demelash Baylyegen ancien doctorant du groupe biophotonique et le meilleur ami que j'ai eu durant ma thèse.

Pour finir, je remercie du fond du cœur ma mère Nissaf et mon père Abdellatif pour leur amour inconditionnel. Merci pour votre confiance et pour votre soutien irremplaçables. Merci à mon frère Borhène et ma sœur Manel pour leurs encouragements. Enfin je remercie mon fiancé Mohamed pour tous les moments de bonheur que nous partageons à chaque instant de notre vie.



---

# Introduction générale

---

## ***Cadre global de ce travail de thèse***

Ce travail de thèse a été réalisé dans le cadre d'une cotutelle entre le groupe biophotonique du Laboratoire Charles Fabry à Paris et le Laboratoire de Spectroscopie Atomique, Moléculaire et Applications (LSAMA) à Tunis. Il entre dans le cadre d'un projet de transfert de technologie vers la Tunisie. En effet, ce travail va permettre la mise en place d'une nouvelle technologie pour la caractérisation des interactions biomoléculaires. Cette technologie peut contribuer efficacement au développement d'une recherche tant théorique qu'expérimentale portant sur les plasmons de surface et ceci pour un large éventail d'applications, en particulier dans le domaine médical. Cette étude a pour principal objectif la conception d'une nouvelle génération de biocapteurs plasmoniques très sensibles qui peuvent répondre aux exigences de bio-analyses biomoléculaires. En effet, les biocapteurs plasmoniques classiques sont basés sur l'utilisation des puces conventionnelles caractérisées par une surface métallique uniforme. Notre stratégie, axée sur la structuration du film métallique de la puce, nous mène à une meilleure compréhension des différents modes plasmoniques qui sont mis en jeu et qui peuvent offrir une plus grande opportunité pour optimiser les performances des capteurs associés, notamment en terme de bio-sensibilité de telles puces.

## ***Contexte de la recherche***

Ces dernières années, nous assistons à un gain d'activité en biophotonique et ceci aussi bien sur des aspects fondamentaux que applicatifs. Le terme vient de deux mots d'origines grecques «bios» signifie la vie et «phos» qui se réfère à l'interaction entre la lumière et la matière biologique. Cette discipline de pointe est définie par l'utilisation des rayonnements visibles, ultra-violets, infrarouges et X pour l'analyse ou la modification d'objets biologiques, par nature complexes.

Cette nouvelle discipline joue un rôle crucial dans le domaine de la santé en permettant des soins de meilleures qualités. Cette amélioration se traduit par des diagnostics de plus en plus précoces des maladies, et par conséquent, elle a également un impact sur la réduction des coûts. La croissance annuelle fulgurante des industries liées à ce domaine témoigne de l'importance économique et socio-politique de la biophotonique. En effet, elle intéresse de plus en plus les scientifiques puisqu'elle concerne la manipulation de la lumière pour l'analyse d'objets et de processus biologiques. Cette approche présente ainsi une jonction dans le couple biologie et photonique en permettant l'analyse d'un problème chimique ou biologique ou médical du point de vue physique, tout en favorisant une synergie entre plusieurs domaines tel que : la chimie, la médecine, les sciences du vivant.

La biophotonique connaît un développement important grâce aussi aux différentes avancées technologiques réalisées dans d'autres domaines, comme par exemple: les lasers, le marquage par chromophores et surtout dans le domaine de la nanophotonique et celui de la plasmonique où la nouvelle capacité d'utiliser des nanostructures métalliques pour manipuler la lumière à une échelle sub-longueur d'onde ouvre une myriade d'opportunités passionnantes.

---

L'aspect pluridisciplinaire de la biophotonique se manifeste bien à travers la thématique des « biocapteurs optiques dynamiques » dans lequel s'inscrit le sujet de cette thèse. Par définition, les biocapteurs sont des systèmes permettant de traduire un phénomène biologique en un signal physique détectable et mesurable par le biais d'un transducteur, l'ensemble se résumant à un seul appareil de mesure. Cette analyse biomoléculaire se base sur la spécificité de la reconnaissance moléculaire entre deux éléments biologiques. L'un des deux est une sonde, généralement immobilisée sur un support formant la couche sensible. La présence des molécules cibles engendre directement un signal quantifiable. Plusieurs espèces biologiques peuvent être utilisées tel que : les protéines, les acides nucléiques, les anticorps, les enzymes, ... jusqu'aux cellules vivantes. Grâce à cette technologie les scientifiques ont réalisé de grandes avancées dans plusieurs domaines, principalement dans le domaine médical et pharmaceutique où les biocapteurs ont contribué à une meilleure compréhension des informations portées par le protéome et l'identification de certaines activités enzymatiques. Nous citons aussi, à titre d'exemple: le développement pharmacogénétique, le diagnostic génétique, la détection de certaines tumeurs et l'étude de nouvelles molécules pharmaceutiques.

L'élaboration de ces biocapteurs nécessite la contribution des chimistes pour développer des méthodes permettant l'accrochage des espèces biologiques sur des supports rigides (métaux) et la contribution des biologistes pour suivre l'application clinique choisie. Afin d'améliorer la détection biologique, les physiciens développent différents capteurs fondés sur de nouvelles méthodes de transduction ainsi que des nouveaux principes de détection tel que: les biocapteurs électrochimiques, ampérométriques, thermiques et plus particulièrement les capteurs optiques. C'est ce dernier type de biocapteur auquel nous nous intéressons au sein du groupe biophotonique du Laboratoire Charles Fabry. En effet, ce travail de thèse porte sur les biocapteurs optiques dynamiques basés sur le phénomène de la résonance de plasmons de surface (à lecture plasmonique). Ces systèmes permettent de traduire un phénomène biologique en un signal optique, permettant de suivre en temps réel et sans marquage le déroulement des réactions biomoléculaires se produisant au voisinage d'une surface métallique.

Grâce à leurs multiples avantages et leurs larges champs d'applications, les biocapteurs connaissent un succès sans précédents. Ceci se traduit par l'augmentation importante du nombre de publications au cours des dernières années (Figure1).

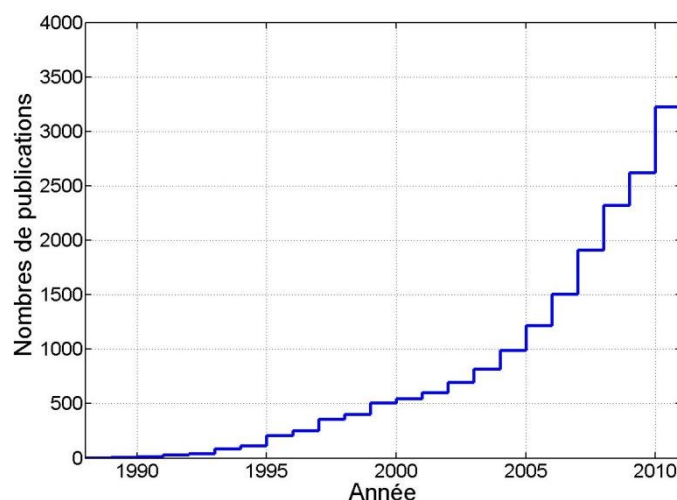


Figure 1: Nombre de publications par année entre 1988 et 2010 fournis par la base de données ISI Web of Knowledge (les mots clés utilisées « plasmonic(s) »+« biosensors »+« surface plasmons resonance »).

Le terme "biopuces" désigne les biocapteurs avec en plus le concept de miniaturisation et l'approche de parallélisation dû au fait que les éléments biologiques sont disposés sous forme de plots. Chaque plot est en soi le siège d'une réaction biologique indépendante d'où la possibilité de caractériser une grande densité d'informations sur une surface. La quantification en parallèle et en temps réel, d'un grand nombre d'interactions biomoléculaires, la simplicité d'utilisation des biopuces, ainsi que leur fiabilité sont les clés expliquant l'essor fulgurant aussi bien d'un point de vue de la recherche fondamentale que celui de la recherche appliquée. Les biopuces, à lecture plasmonique basées sur la résonance de plasmons de surface, sont les biopuces les plus répandues. Elles sont généralement composées d'un film métallique fin uniforme déposé sur un diélectrique. Une fois que la condition de couplage est satisfaite entre l'onde incidente, transmise à travers le diélectrique, et les électrons libres du métal, des ondes plasmons de surface sont alors générées. Ces ondes évanescences qui se propagent à l'interface entre le métal et le milieu environnant sont très sensibles au moindre changement dans le milieu environnant.

## ***Objectifs et enjeux de ce travail,***

Malgré leurs contributions dans plusieurs domaines, les biopuces à lecture plasmonique conventionnelle basées sur l'utilisation d'une surface métallique plane d'or, sont limitées en terme de sensibilité surtout quand il s'agit de détecter des molécules de faibles masses molaires. C'est dans le cadre de cette problématique que mes travaux de thèse se situent. Ces travaux consistent principalement à caractériser numériquement et expérimentalement des surfaces métalliques plasmoniques nano-micro-structurées afin d'étudier leur potentiel d'application en tant que biopuce optique. En effet, ces structures possèdent des propriétés inédites dans leur interaction avec la lumière et peuvent exciter les plasmons de surface de façon plus efficace. Ces derniers peuvent prendre des formes diverses allant de la propagation d'ondes de densité d'électrons le long de la surface métallique (mode délocalisé) à l'oscillation des électrons localisés sur les structures (mode localisé).

---

La structuration de la surface métallique avec des motifs (structures) ayant différentes dimensions, du nanomètre au micromètre, ouvre un champ d'étude offrant la possibilité de comprendre et de décrire la transition entre ces deux domaines. Nous étudions aussi les phénomènes plasmoniques ainsi que les modes hybrides dus aux mécanismes de couplages entre les différents modes plasmoniques. Ces phénomènes de couplage entre les modes permettent l'optimisation du design d'une biopuce structurée ainsi que l'amélioration de sa sensibilité de détection comparée à celle d'une biopuce conventionnelle basée sur l'utilisation d'une surface métallique uniforme. La localisation des biomolécules dans des endroits spécifiques de la structure permet de profiter au mieux de l'exaltation du champ électrique engendré par le couplage entre les différents modes plasmoniques. Ceci augmentera davantage la sensibilité de la biopuce et permettra de concevoir une nouvelle génération de biopuces à très hautes sensibilités.

## ***Organisation de ce manuscrit de thèse***

Mon manuscrit est organisé en quatre chapitres :

**Le premier chapitre** introduit les plasmons de surface ainsi que leurs propriétés permettant la mise en œuvre des biopuces à lecture plasmonique. Nous décrivons les systèmes à résonance de plasmons de surface (RPS) permettant la bio-détection des interactions biomoléculaires en particulier le système d'imagerie par RPS en soulignant ses avantages ainsi que sa limite de détection. La structuration de la surface de la puce étant l'une des pistes proposées pour améliorer la performance d'une biopuce conventionnelle, nous énumérons les différents exemples de motifs étudiés dans la littérature.

**Le deuxième chapitre** englobe à la fois la présentation de l'outil de simulation et la description des dispositifs expérimentaux utilisés dans notre travail. L'outil de simulation analytique que nous avons développé, basé sur la méthode de Rouard généralisée, permet de prédire et d'optimiser la réponse en terme de sensibilité d'une biopuce conventionnelle. Cette optimisation sert de base pour une comparaison avec la réponse d'une biopuce structurée. Afin d'atteindre notre objectif qui consiste à étudier l'impact de structuration, nous avons adopté un modèle numérique, efficace et rapide, basé sur l'hybridation entre la méthode des éléments finis et la méthode modale de Fourier. Cette méthode **hybride** permet de prédire les propriétés optiques de la surface avec des structures complexes. L'approche expérimentale, ayant comme objectif de caractériser expérimentalement les biopuces et quantifier leurs potentiels pour la bio-détection, est présente grâce à deux dispositifs de mesure de réflectivités : le **mono-capteur** et le dispositif d'**Imagerie spectrale par résonance de plasmons de surface**.

**Le troisième chapitre** comprend la substantifique moelle de mon travail qui porte essentiellement sur la quantification du potentiel de détection d'une biopuce intégrant un réseau 1D structuré. À travers une étude numérique paramétrique, offrant la possibilité de varier les dimensions de la biopuce structurée nous cartographions sa réponse en terme de sensibilité ainsi que ses propriétés optiques. Les différentes combinaisons des paramètres de structuration permettent d'allier les avantages du plasmon propagatif et celui du plasmon

---

localisé et aussi de mettre l'accent sur la corrélation entre la sensibilité et la réponse optique de la puce. Cette façon de procéder offre non seulement une meilleure compréhension de la transition entre le régime nanométrique et le régime micrométrique mais aussi permet de trouver les paramètres optimaux pour la conception d'une biopuce structurée. Nous exposons également quelques résultats expérimentaux relatifs à la caractérisation des surfaces structurées en terme de réflectivité et de sensibilité pour les confronter ensuite avec les résultats numériques.

**Le quatrième chapitre** montre comment mieux tirer profit de la structuration en étudiant l'impact de la localisation sélective des biomolécules dans certaines zones sensibles. En effet, nous envisageons d'étudier la corrélation spatiale entre l'intensité du champ électrique, qui caractérise ces zones spécifiques, et la réponse d'une biopuce nano-micro-structurée en terme de sensibilité locale. L'optimisation de cette sensibilité locale est ensuite effectuée par la variation des différentes dimensions géométriques des nanostructures.

Finalement, en **conclusion** nous dresserons un bilan des conclusions importantes tirées de ce travail et nous proposons également les perspectives ouvrant d'autres pistes d'amélioration de la bio-détection.

---

## **Abréviations**

RPS: Résonance de Plasmons de Surface

IRPS : Imagerie par Résonance de Plasmons de Surface

PSL : Plasmons de Surface Localisés

PP: Plasmons propagatifs

TM : Polarisation Transverse Magnétique

TE : Polarisation Transverse Électrique

RIU : Refractive Index Unit

CCD: Charged Coupled Device

FEM: Finite Elements Method

FMM : Fourier Modal Method

SEF: Sensitivity Enhancement Factor

SFOM : Figure de Mérite de la Sensibilité

## **Variables**

$\lambda$  : Longueur d'onde incidente

$\Delta R_{\max}$  : La variation maximale de réflectivité

$\Delta e$  : L'épaisseur de la couche biologique

$\Delta R$  (% / nm) : La sensibilité à une couche biologique

$\Delta R$  (% / RIU) : La sensibilité à un saut d'indice

$\Delta n$  : La variation de l'indice de réfraction du milieu diélectrique (saut d'indice)

$\Delta\theta$ : Le décalage angulaire de la courbe plasmon

$h_1$  : L'épaisseur supérieure du réseau

$h_2$  : L'épaisseur inférieure réseau

$\Delta h$  : La profondeur de la structuration

---

$w_1$  : La largeur de la structure

$w_2$  : L'espacement entre les structures

$\Lambda$  : La période du réseau

$\lambda_{SP}$  : La longueur d'onde plasmons de surface

$K_1$  : La largeur supérieure normalisée de la structure

$K_2$  : L'espacement normalisé entre les structures

$K$  : la largeur normalisée de la période de la structuration

$\theta_{res}$  : L'angle de résonance

$n_p$  : L'indice de réfraction de prisme

$P$  : Le vecteur de Poynting

$|H_y|$  : la composante y du champ magnétique

$|E_z|$  : la composante z du champ électrique



---

## Sommaire

<b>CHAPITRE 1 : INTRODUCTION AUX BIOPUCES À LECTURE PLASMONIQUE</b>	<b>16</b>
<b>1.1. Biopuce conventionnelle basée sur la résonance de plasmons de surface.</b>	<b>17</b>
1.1.1. Définition d'une biopuce	17
1.1.2. Présentation des plasmons de surface délocalisés	19
1.1.2.1. Historique des plasmons de surface délocalisés	19
1.1.2.2. Théorie de Drude: les plasmons de volume et les plasmons de surface	21
1.1.2.2.1. Théorie de Drude	21
1.1.2.2.2. Plasmons de volume	22
1.1.2.2.3. Plasmons de surface	22
1.1.2.3. Relation de dispersion et couplage des modes	23
1.1.2.4. Différentes méthodes de couplage	26
1.1.2.4.1. Couplage par un réseau	26
1.1.2.4.2. Couplage par un prisme	28
1.1.2.5. Grandeurs caractéristique des plasmons de surface	30
1.1.3. Biocapteur à résonance de plasmons de surface (mode délocalisé)	35
1.1.3.1. Historique	35
1.1.3.2. Description qualitative de la résonance de plasmons de surface	35
1.1.3.3. Principe de détection	37
1.1.3.4. Différentes méthodes de détection (spectrale, angulaire, angulo-spectrale, suivi dynamique d'interaction)	38
1.1.3.4.1. Interrogation angulaire	38
1.1.3.4.2. Interrogation spectrale	40
1.1.3.4.3. Interrogation en réflectivité et dynamique d'interaction	42
1.1.4. Imagerie par résonance de plasmons de surface (IRPS)	45
1.1.5. Performances des biocapteurs à RPS	48
<b>1.2. Limitation physique des biocapteurs conventionnels basés sur la RPS</b>	<b>49</b>
<b>1.3. Amélioration de la performance des biopuces conventionnelles à lecture plasmonique</b>	<b>49</b>
1.3.1. Utilisation d'un marqueur	50
1.3.2. Excitation des plasmons localisés	50
1.3.2.1. Présentation des plasmons de surface localisés	51
1.3.2.2. Propriétés des plasmons de surface localisés	52
1.3.2.2.1. Longueurs de pénétration nanométrique	52
1.3.2.2.2. Approximation dipolaire	52
1.3.2.2.3. Modes de résonance	53
1.3.2.2.4. Fort confinement du champ électrique	53
1.3.3. Application des plasmons de surface localisés pour la bio-détection	56
1.3.4. Structuration de la surface des biopuces	59
1.3.4.1. Phénomène de « band-gap »	59
1.3.4.2. Phénomène du couplage entre RPS et RPSL	59

<b>1.4. Projet de recherche</b>	<b>65</b>
1.4.1. Contexte	65
1.4.2. Hypothèses	65
1.4.3. Bref descriptif de notre stratégie de travail	66
 <b>CHAPITRE 2 : OUTILS NUMÉRIQUES ET DISPOSITIFS EXPÉRIMENTAUX</b>	 <b>67</b>
<b>2.1. Méthode de calcul et outils de simulation</b>	<b>68</b>
2.1.1. Modèle analytique : méthode de Rouard	68
2.1.1.1. Méthode de Rouard pour trois couches	69
2.1.1.2. Généralisation de la méthode de Rouard pour p couches	72
2.1.1.3. Simulation d'une biopuce conventionnelle par la méthode de Rouard	72
2.1.1.4. Description du code développé	73
2.1.1.5. Réponse d'une biopuce par la méthode de Rouard	74
2.1.1.6. Optimisation d'une biopuce multicouches	77
2.1.1.6.1. Choix du métal	77
2.1.1.6.2. Choix de l'épaisseur optimale du métal	78
2.1.2. Modèle numérique : Méthode Hybride	82
2.1.2.1. Méthode modale de Fourier	83
2.1.2.1.1. Expressions des vecteurs d'onde	85
2.1.2.1.2. Expression du champ électrique dans les différents milieux	85
2.1.2.2. Matrice de transfert T	89
2.1.2.3. Matrice de diffraction S (Scattering matrix)	90
2.1.3. Méthode des éléments finis	91
2.1.3.1. Méthode des éléments finis (FEM)	91
2.1.4. FEM versus FMM	94
2.1.5. Méthode hybride	95
2.1.5.1. Hybridation	96
2.1.5.2. Validation de la méthode hybride	98
2.1.5.3. Importance du maillage d'un réseau 1D	100
2.1.5.4. Accélération des calculs	103
 <b>2.2. Dispositifs expérimentaux</b>	 <b>105</b>
2.2.1. Mono-capteur	105
2.2.1.1. Composants d'un montage mono-capteur	106
2.2.1.2. Protocole d'utilisation d'un mono-capteur	108
2.2.1.3. Avantages et inconvénients d'un montage mono-capteur	108
2.2.2. Imagerie par résonance de plasmons de surface : dispositif « angulo-spectral »	110
2.2.2.1. Composants du montage	112
 <b>CHAPITRE 3 : ÉTUDE DE LA RÉPONSE D'UNE BIOPUCE 2D STRUCTURÉE</b>	 <b>119</b>
<b>3.1. Étude numérique de la réponse d'une biopuce 2D structurée</b>	<b>120</b>
3.1.1. Optimisation de la réponse d'une biopuce conventionnelle	120
3.1.2. Description de la biopuce 2D étudiée et définitions des différents paramètres des structures	122
3.1.2.1. Largeur des structures $w_1$ et espacement entre les structures $w_2$	123
3.1.2.2. Épaisseur des structures $h_1$ et $h_2$	125
3.1.3. Cartographie du potentiel de détection d'une biopuce 2D structurée	126

3.1.3.1.	Description globale de la carte de sensibilité	126
3.1.3.2.	Étude de la région micrométrique	129
3.1.3.2.1.	Évolution de la sensibilité	129
3.1.3.2.2.	Calcul du champ électrique et du champ magnétique	136
3.1.3.2.3.	Étude de la réflectivité	140
3.1.3.3.	Étude de la région nanométrique	142
3.1.3.3.1.	Évolution de la sensibilité	142
3.1.3.3.2.	Évolution de la SFOM	145
3.1.3.3.3.	Calcul du champ électrique	151
3.1.3.3.4.	Étude de la réflectivité	152
3.1.4.	Généralisation	153
<b>3.2.</b>	<b>Étude expérimentale de la réponse d'une biopuce 2D structurée</b>	<b>155</b>
3.2.1.	Conception des réseaux par lithographie électronique	156
3.2.2.	Procédé de fabrication	158
3.2.3.	Caractérisation d'une surface structurée par IRPS : déroulement de l'expérience	160
3.2.4.	Résultats de la caractérisation optique	162
<b>CHAPITRE 4 :</b>	<b>EFFET DE LA LOCALISATION DES BIOMOLÉCULES</b>	<b>171</b>
<b>4.1.</b>	<b>État de l'art</b>	<b>172</b>
<b>4.2.</b>	<b>Effet de la localisation des biomolécules dans une biopuce micro-structurée</b>	<b>173</b>
<b>4.3.</b>	<b>Effet de la localisation des biomolécules dans une biopuce nano-structurée</b>	<b>179</b>
4.3.1.	Impact de la largeur des pistes et des fentes	179
4.3.1.1.	Calcul de la sensibilité	179
4.3.1.2.	Calcul de la SEF	182
4.3.2.	Impact de la hauteur du réseau	188
<b>4.4.</b>	<b>Faisabilité de la localisation des biomolécules</b>	<b>190</b>
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>		<b>192</b>
<b>ANNEXES</b>		<b>195</b>
<b>RÉFÉRENCES</b>		<b>199</b>

---

# Chapitre 1 : Introduction aux biopuces à lecture plasmonique

*Nous entamons ce chapitre par l'introduction des biopuces à lecture plasmonique, dans le but de souligner les avantages de la détection plasmonique, comparée aux techniques des biopuces utilisées à l'heure actuelle, en particulier celles la fluorescence. Afin de mieux comprendre le fonctionnement d'une biopuce à lecture plasmonique, nous revenons sur l'historique des plasmons de surface en soulignant la nécessité d'avoir un dispositif de couplage pour pouvoir exciter l'onde plasmons de surface avant de détailler les propriétés optiques de cette onde plasmonique dans le visible. Nous présentons ensuite comment les ondes plasmons de surface ont été exploitées pour concevoir des biocapteurs soit en mode mono-point permettant de suivre une seule interaction biomoléculaire soit en mode d'imagerie de plasmon de surface offrant l'avantage de détecter, en temps réel, et en parallèle plusieurs interactions biomoléculaires. Nous expliquons que ces biocapteurs, malgré leurs multiples avantages, atteignent leur limite physique de détection en terme de sensibilité. Une partie du chapitre est consacrée donc à l'état de l'art de différentes techniques permettant de s'affranchir de cette limitation, centrées essentiellement sur l'utilisation des particules métalliques sièges des plasmons localisés. Ces techniques se basent sur des dispositifs permettant la mesure des spectres de transmission, ou bien en combinant les avantages des plasmons localisés et celles des plasmons propagatifs par la simple structuration de la surface d'une biopuce basée sur la configuration de Kretschmann en conservant la lecture du signal optique en réflectivité.*

## Introduction

Ce chapitre a pour but d'introduire le phénomène des plasmons et de décrire leurs propriétés qui permettent son exploitation pour la conception des biopuces conventionnelles à lecture plasmonique. Nous présentons par la suite différentes pistes proposées dans la littérature pour améliorer la performance de cette biopuce afin de mieux expliquer le contexte de notre projet de recherche.

### 1.1. Biopuce conventionnelle basée sur la résonance de plasmons de surface.

Avant d'entamer la description des biopuces conventionnelles basées sur la résonance de plasmons de surface, nous présentons le principe de fonctionnement des biopuces d'une façon générale (RPS, Fluorescence,...) ainsi que leur champ d'application.

#### 1.1.1. Définition d'une biopuce

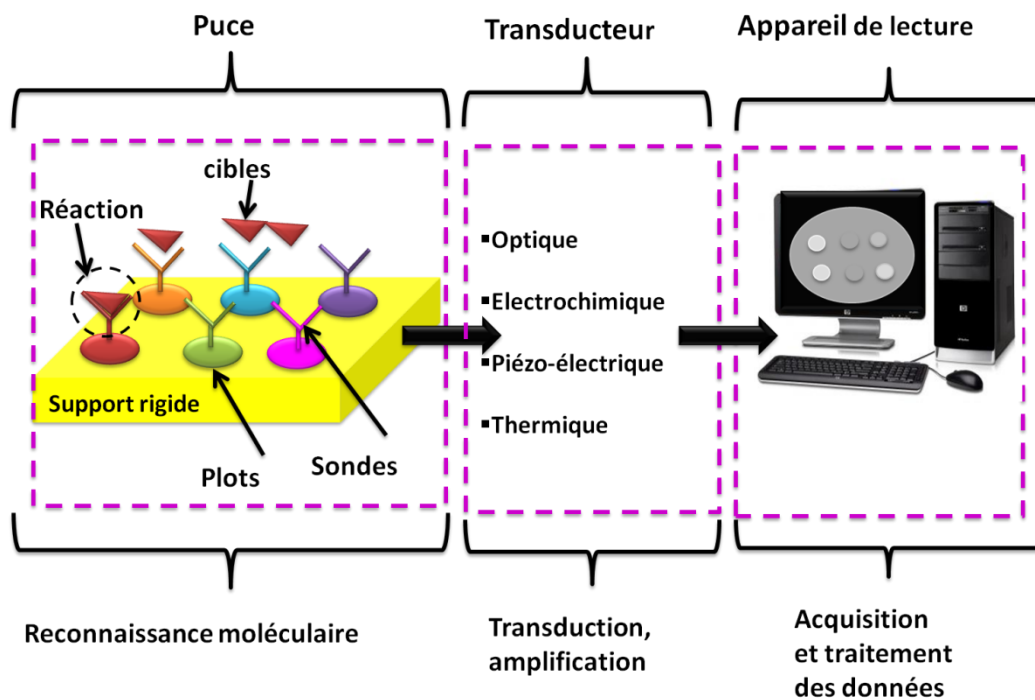


Figure 1. 1: Schéma de principe d'un système biopuce

Le terme biopuce désigne un dispositif capable d'analyser des interactions biomoléculaires (Figure 1. 1). Il est basé sur une surface rigide (verre, métal) de petite taille (quelques millimètres à quelques centimètres) qui intègre des molécules biologiques nommées « **sondes** » immobilisées sous formes de plots. Ces sondes présentent une certaine affinité pour d'autres éléments biologiques bien particuliers nommés « **cibles** » (Bassil et al. 2003). L'injection d'une solution qui contient les molécules cibles permet l'interaction entre les sondes et les cibles. Dans ce cas la réponse de la puce dépend de la présence, ou de l'absence, des cibles possédant l'affinité requise avec les sondes. En effet, gouvernées par la **spécificité** et la **sélectivité** de la reconnaissance moléculaire entre les deux éléments biologiques, les sondes interagissent plus ou moins fortement avec les cibles et cette affinité

va engendrer directement un signal quantifiable. Après rinçage, il ne reste, sur la surface de la biopuce, que les couples sonde-cible fortement liés entre eux.

Ces biopuces permettent de remonter à l'information contenue dans chaque plot sachant que chacun d'eux est le siège d'une réaction biologique indépendante. Le succès de cette technologie est étroitement lié au concept de parallélisation (Bassil et al. 2003) qui offre la possibilité d'analyser en parallèle et simultanément un grand nombre d'interactions biomoléculaires permettant ainsi un gain de temps considérable lors des analyses cliniques.

La clé du succès des biopuces réside aussi dans la synergie entre les différents éléments qui la composent. En plus du support rigide sur lequel se déroule un grand nombre d'interactions biomoléculaires basées sur la bio-reconnaissance moléculaire, la biopuce est composée aussi d'un transducteur. Celui-ci est défini comme étant un dispositif qui transforme le signal biologique en un signal physique quantifiable et mesurable. Pour la troisième phase, nous avons besoin d'un appareil de lecture qui permet l'acquisition et le traitement des données tout en facilitant leur exploitation.

Les mécanismes de transduction sur lesquels se basent les biopuces sont variés. Il existe des transducteurs électrochimiques, basés sur la potentiométrie, l'ampèremétrie ou la conductimétrie. Il existe encore les transducteurs thermiques, piézo-électriques... Nous nous intéressons dans cette thèse à la transduction optique, étant données les avantages de cette méthode que nous ne manquerons pas de souligner tout au long de ce chapitre. Ce type de transduction est basé sur la fluorescence ou sur l'interférométrie ou bien sur la résonance de plasmons de surface. Néanmoins la fluorescence est la méthode la plus utilisée pour des applications médicales du fait de sa grande sensibilité. Cette technique est très sensible car elle est capable de mesurer des quantités de l'ordre de 10 nmol. La figure 1. 2 illustre un exemple de biopuce à fluorescence.

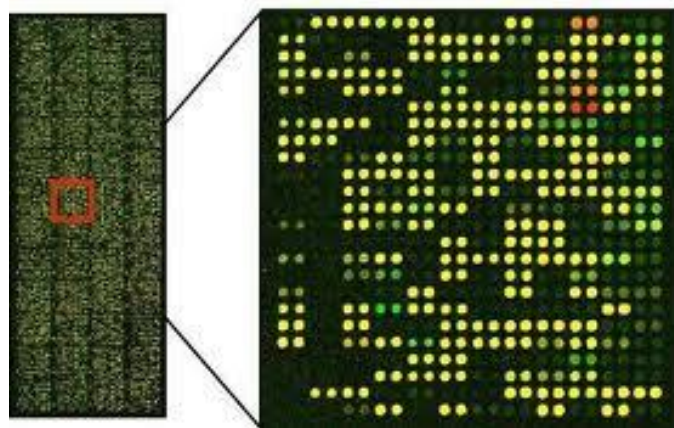


Figure 1. 2: Image d'une biopuce à fluorescence illustrant un grand nombre de plots sièges des différentes interactions biomoléculaires (<http://www.savoirs.essonne.fr/>).

Cette méthode présente aussi un certain nombre d'inconvénients tels que la lourdeur du protocole de marquage ainsi que l'utilisation des fluorophores qui risquent de modifier les propriétés de certaines molécules comme les protéines. De plus, cette méthode est

contraignante car elle nécessite une période d'attente liée à la phase de rinçage permettant d'éliminer le surplus de produits n'ayant pas interagi. Ceci empêche de suivre instantanément les différentes étapes de la réaction et ne permet pas l'obtention des informations sur l'interaction biologique au fur et à mesure qu'elle se produit. L'un des principaux inconvénients de cette technique réside dans le fait qu'elle dénature certaines interactions faibles durant l'étape du rinçage et donc empêche leurs mesures. En revanche, les biopuces à lecture plasmonique basées sur le phénomène de la résonance de plasmons de surface permettent de suivre un nombre important d'interactions biologiques, même celles qui sont faibles, avec l'avantage de suivre en temps réel toutes les étapes de chacune des réactions biomoléculaires, tout en s'affranchissant de l'étape de marquage. Il est possible donc d'observer n'importe quel type d'interaction (ADN – ADN (Nelson et al. 2000; Hottin et al. 2007), ADN – protéine (Maillart et al. 2004), protéine– protéine (Wegner et al. 2003)...).

Ces biopuces à lecture plasmonique, en développement continu, suscitent ces dernières années un grand intérêt, grâce notamment aux progrès technologiques dans la réalisation des structures sub-micrométriques sur la surface métallique de la biopuce. Celles-ci offrent la possibilité d'amplifier d'avantage le signal biologique et d'améliorer la fiabilité et la sensibilité de la réponse tout en élargissant le domaine d'applications potentielles de cette technologie.

### 1.1.2. Présentation des plasmons de surface délocalisés

Les plasmons de surface délocalisés, connus aussi sous le nom de plasmons propagatifs (PP), sont des modes électromagnétiques en polarisation transverse magnétique (TM) qui se propagent le long d'une interface entre un métal et un diélectrique. Ces modes sont associés au couplage entre une onde lumineuse se propageant dans le milieu diélectrique et l'oscillation longitudinale collective des électrons libres à la surface d'un métal (Pitarke et al. 2007).

#### 1.1.2.1. Historique des plasmons de surface délocalisés

En 1902, R. Wood, pendant qu'il observait le spectre d'une source continue de lumière blanche réfléchi par un réseau de diffraction métallique, a constaté l'existence de fines bandes sombres dans le spectre diffracté (Wood 1902). En changeant l'angle d'incidence, il a remarqué que ces fines bandes changeaient de position (Figure 1. 3). Il a rapidement montré expérimentalement que ces anomalies étaient liées à la périodicité de réseau et dépendaient de la polarisation de la lumière incidente. Wood était conscient que la théorie de diffraction par un réseau était incapable d'expliquer cette découverte expérimentale. Il fallait attendre 50 ans pour que les phénomènes responsables de ces anomalies soient compris.



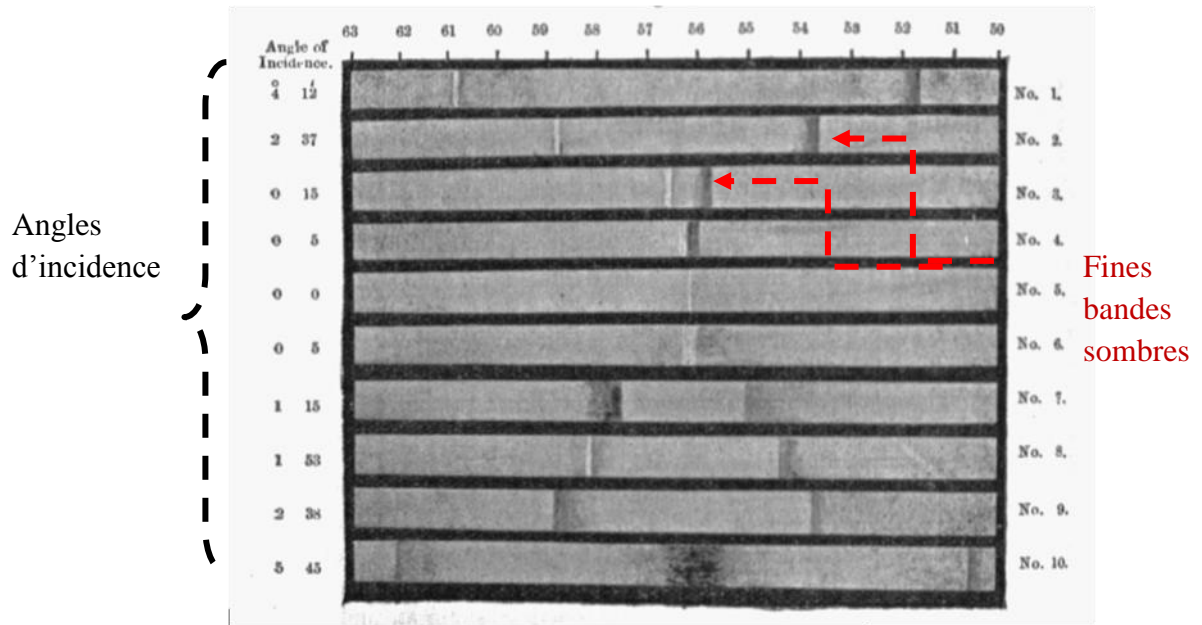


Figure 1. 3: Fines bandes sombres dans le spectre de réflexion d'un réseau, vues par R. Wood, lors de son expérience. L'angle d'incidence apparaît en ordonnée et l'angle de diffraction en abscisse. La position de ces bandes sombres dépend de l'angle d'incidence (figure prise de la référence (Wood 1902)).

Plus tard, en 1956, Pines a considéré que les pertes subies lors de la diffraction des électrons sur un métal sont dues aux oscillations collectives de ces électrons libres. En faisant une analogie avec les oscillations électroniques de plasma dans les décharges de gaz, il nomme « plasmon » le quantum d'excitation collective de ces électrons libres du métal (Pines 1956). L'interprétation théorique de ce phénomène a été donnée la même année par Fano (Fano 1956) qui introduit le terme « polariton » pour désigner l'existence de l'onde de surface supportée par les réseaux. En 1957, Ritchie donne une première description théorique du phénomène des plasmons de surface (Ritchie 1957).

En 1968, Otto a montré expérimentalement que ces ondes de surfaces pouvaient être excitées en utilisant la réflexion totale atténuée (Otto 1968). En utilisant un prisme de haut indice, l'onde passante à travers le prisme crée une onde évanescente à la surface de la base du prisme. En plaçant le métal à une faible distance de la base du prisme et en enregistrant la réflectivité en fonction des différents angles, il a pu reproduire l'expérience de Wood en détectant des bandes d'absorption dans le spectre angulaire. Durant cette même année, Kretschmann et Raether (Kretschmann et al. 1968) ont obtenu les mêmes résultats à partir d'une configuration basée sur une couche mince métallique directement déposée sur la base du prisme. Du point de vue pratique, la configuration de Kretschmann est la plus utilisée étant donné sa simplicité.



### 1.1.2.2. Théorie de Drude: les plasmons de volume et les plasmons de surface

#### 1.1.2.2.1. Théorie de Drude

Nous commençons par décrire les propriétés optiques des métaux permettant d'étudier l'interaction entre un métal et une onde lumineuse de fréquence  $\omega$  et ceci afin de mieux comprendre les différents phénomènes entrant en jeu dans la génération des plasmons. Nous considérons, tout d'abord, un métal comme un milieu homogène, isotrope, linéaire, de constante diélectrique  $\epsilon$ , de perméabilité magnétique  $\mu$  et de conductivité  $\sigma$ . Nous introduisons la fonction diélectrique, qui relie la constante diélectrique à la conductivité du métal par la relation:

$$\epsilon_m(\omega) = \epsilon'_m(\omega) + i \frac{\sigma(\omega)}{\omega} \quad (I.1)$$

où  $\epsilon'_m$  est la partie réelle de la constante diélectrique. L'indice de réfraction complexe du milieu métallique est donc donné par la relation :

$$n(\omega) = \sqrt{\epsilon_m(\omega)} \quad (I.2)$$

L'indice de réfraction est complexe avec une partie réelle qui est liée à la propagation de l'onde tandis que la partie imaginaire caractérise l'absorption de la lumière.

Ce sont les électrons du métal qui déterminent la réponse du milieu à une excitation électromagnétique. Le modèle de Drude est le modèle le plus simple qui permet de rendre compte du comportement des électrons sous l'action d'un champ électrique. Ce modèle se base sur l'assimilation des électrons de conduction à un gaz d'électrons libres en interaction avec le potentiel périodique de la structure.

Le comportement du gaz d'électrons libres, dans un champ électrique variable, avec un coefficient d'amortissement  $\gamma$ , conduit à la constante diélectrique du métal:

$$\epsilon_m(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega(\omega + i\gamma)} \quad (I.3)$$

avec  $\omega_p$  la pulsation de plasma pour laquelle la fonction diélectrique s'annule. Nous définissons cette pulsation dans la prochaine section. Dans le domaine du visible, qui nous intéresse dans cette étude, nous avons la condition  $\gamma < \omega_p \ll \omega$  donc la fonction diélectrique peut être simplifiée de la manière suivante :

$$\epsilon_m \approx 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (I.4)$$

En se basant sur le modèle de Drude, nous pouvons décrire le plasmon comme une quasi-particule générée par l'excitation collective des électrons du métal. Il est possible de distinguer deux sortes de plasmons : les plasmons de volumes et les plasmons de surface.

#### 1.1.2.2.2. Plasmons de volume

La densité de charge liée au gaz d'électrons dans le métal peut se mettre à osciller dans tout le volume du métal avec une fréquence propre nommée la pulsation plasma qui est définie par :

$$\omega_p = \sqrt{\frac{N_e e^2}{\epsilon_0 m_e}} \quad (I.5)$$

Où  $N_e$  est la densité de charge,  $e$  est la charge élémentaire d'un électron,  $m_e$  est la masse effective des électrons, et  $\epsilon_0$  est la permittivité diélectrique du vide. Ce déplacement de charge dans le métal massif est un plasmon de volume dont le quantum d'énergie vaut  $\hbar\omega_p$ .

#### 1.1.2.2.3. Plasmons de surface

On considère l'interface entre deux régions homogènes, isotropes et non magnétiques. Dans ce cas, le phénomène de plasmons de surface peut être décrit comme étant une oscillation longitudinale collective des électrons libres à la surface d'un métal. Elle correspond à une fluctuation de la densité de charge dans le temps et dans l'espace. La résolution des équations de l'électromagnétisme pour une onde incidente sur une interface entre un métal et un diélectrique (voir annexe 1) donne une solution qui prévoit l'existence de l'onde de surface résultant d'une telle fluctuation. Cette onde se propageant à l'interface du métal admet une décroissance exponentielle (Figure 1. 4) des deux côtés de l'interface séparant le métal du milieu diélectrique et possède une polarisation transverse magnétique. Ce type d'onde ne peut être excité qu'à l'interface entre deux milieux avec des constantes diélectriques de signes opposés (voir annexe 1). Pour cette raison, nous nous focalisons sur l'étude de l'interface entre un métal dont la partie réelle de sa constante diélectrique est négative et un diélectrique dont la constante est positive.

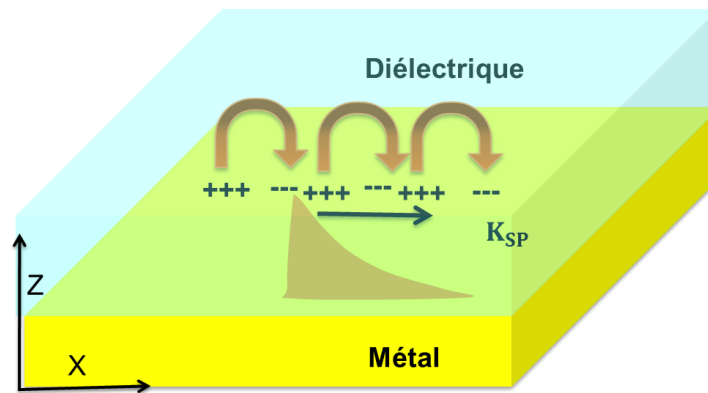


Figure 1. 4: Schéma d'une onde plasmons de surface qui se propage à l'interface entre un métal et un diélectrique. Elle a un vecteur d'onde  $K_{SP}$ . L'intensité de l'onde décroît exponentiellement en fonction de la distance à l'interface. L'oscillation collective des électrons de conduction à la surface d'un métal est représentée par les + et les -.

La résolution des équations de Maxwell pour une onde électromagnétique à l'interface entre un milieu diélectrique et un milieu métallique permet de déterminer le vecteur d'onde complexe sous la forme suivante :  $\epsilon_m = \epsilon_m' + i \epsilon_m''$  (voir l'annexe)

$$k_{SP} = k'_{SP} + i k''_{SP} = \left[ \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon_m' \epsilon_d}{\epsilon_m' + \epsilon_d} \right)^{1/2} \right] + i \left[ \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon_m' \epsilon_d}{\epsilon_m' + \epsilon_d} \right)^{3/2} \frac{\epsilon_m''}{2(\epsilon_m')^2} \right] \quad (I.6)$$

La partie réelle du vecteur d'onde  $k'_{SP}$  définit la propagation de l'onde plasmons de surface.

$$k'_{SP} = \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon_m' \epsilon_d}{\epsilon_m' + \epsilon_d} \right)^{1/2} \quad (I.7)$$

La relation qui relie la partie réelle du vecteur d'onde et la fréquence  $\omega$  est appelée relation de dispersion.

#### 1.1.2.3. Relation de dispersion et couplage des modes

L'examen des courbes de dispersion, associées à des modes électromagnétiques de nature différentes (photons, plasmons de surface), apporte des informations sur leurs conditions d'existence et aide à la détermination des possibilités de couplage entre ces modes. La conversion d'un mode vers un autre n'est possible que s'il y a conservation de l'énergie d'un photon  $\hbar\omega$  vers un mode plasmons. Ces possibilités du couplage entre les deux modes sont visualisées par les intersections de leurs courbes de dispersion.

A titre d'exemple, considérons une couche d'or  $\sim 50$  nm, déposée sur un substrat de verre, telle que représentée dans la figure 1. 5. Nous supposons dans un premier temps que l'onde incidente traverse le vide et éclaire le métal sous un angle  $\theta$ , le vecteur d'onde est donc :

$$k_{\text{diélectrique}} = \frac{\omega}{c} \quad (I.8)$$

sa composante parallèle est

$$k_{x\_diélectrique} = \frac{\omega}{c} \sin\theta \quad (I.9)$$

Si nous supposons dans un deuxième temps que l'onde incidente traverse un milieu diélectrique caractérisé par une constante diélectrique ( $\epsilon_p = 2.98$ ) et un indice de réfraction ( $n_p = 1.701$ ) plus élevé que le vide et arrive sur le métal sous un angle  $\theta$ , son vecteur d'onde devient :

$$k_{\text{Substrat}} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_p} \quad (I.10)$$

et une composante parallèle

$$k_{x\_Substrat} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_p} \sin\theta \quad (I.11)$$

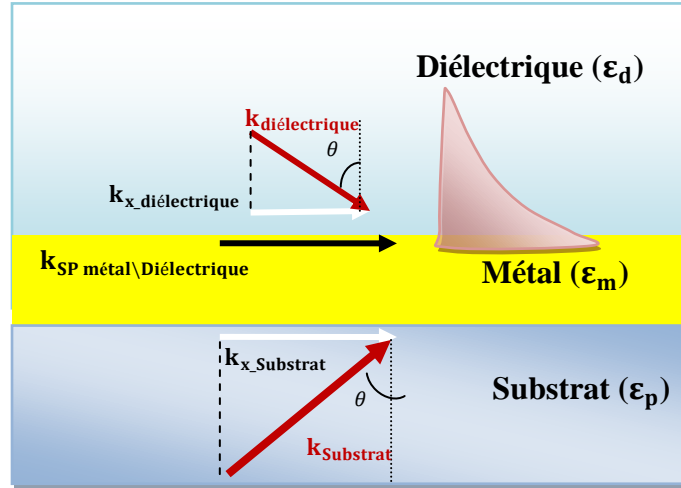


Figure 1. 5: Schéma présentant les deux cas d'incidence possible à partir d'un milieu diélectrique (vide) ou à partir d'un substrat (indice de réfraction élevé). Les flèches en rouges représentent les vecteurs d'onde incidente et les flèches en blanc sont leurs composantes parallèles. La flèche en noir représente la composante parallèle de l'onde plasmons de surface générée sur l'interface entre le métal et le diélectrique.

Afin d'étudier le mécanisme de couplage entre les modes électromagnétiques ainsi que la résonance plasmonique, nous traçons la relation de dispersion des plasmons de surface à partir de l'expression de la partie réelle du vecteur d'onde plasmons de surface ainsi que les relations de dispersion des ondes incidentes dans les deux cas : vide et diélectrique. [Eq. (I.10) et Eq. (I.11)]

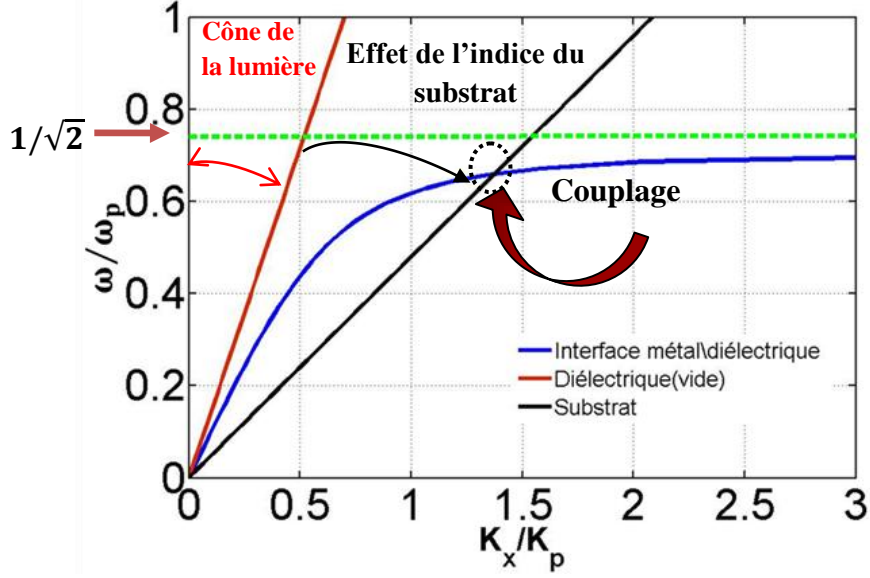


Figure 1. 6: Courbes de dispersion associées à trois modes électromagnétiques différents : La courbe bleue est associée à l'onde plasmons de surface. La courbe rouge désigne l'onde incidente dans le vide (angle d'incidence 90°). La courbe noire est associée à l'onde incidente dans le substrat.

La courbe bleue (Figure 1. 6), qui correspond à la relation de dispersion, est associée à l'onde plasmons de surface. Cette courbe admet une asymptote pour la valeur  $\frac{\omega}{\omega_p} = 1/\sqrt{2}$ . Pour mieux expliquer la valeur de cette asymptote, nous rappelons que la fonction diélectrique du métal est complexe  $\epsilon_m = \epsilon'_m + i\epsilon''_m$  et que l'onde plasmons de surface ne peut être excitée que lorsque  $\epsilon'_m < -\epsilon_d$ . Nous rappelons aussi que dans le cas d'un métal idéal, on a  $\epsilon_m \approx 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2}$ . Dans ce cas, les plasmons de surface n'existeront que pour des fréquences d'excitation telle que :

$$\omega < \frac{\omega_p}{(1 + \epsilon_d)^{1/2}} \quad (\text{I.12})$$

La constante diélectrique la plus faible possible est  $\epsilon_d = 1$  (vide). Les plasmons de surface n'existeront donc que pour des fréquences d'excitation telle que  $\omega < \frac{\omega_p}{\sqrt{2}}$ .

Si nous nous focalisons sur le cas d'une onde électromagnétique qui traverse le vide, la relation de dispersion est une droite avec une pente qui dépend de l'angle d'incidence. Il en résulte que quelque soit l'angle  $\theta$  formé par le vecteur d'onde d'un photon incident, sa composante parallèle  $k_{x\_diélectrique}$  est inférieure à  $k_{diélectrique} = \frac{\omega}{c}$  (courbe rouge) et donc la droite de dispersion de  $k_{x\_diélectrique}$  se situe toujours dans le cône de lumière. Par contre, la courbes de dispersion des plasmons de surface métal \ diélectrique (courbe bleue) se trouvent invariablement à droite du cône de lumière. L'absence d'intersection entre ces deux courbes indique que l'énergie des plasmons de surfaces ne peut pas être convertie. En d'autres termes, l'accord entre les vecteurs d'onde n'est pas réalisé, il est impossible d'exciter les plasmons de surface en éclairant directement le métal.

Dans le deuxième cas (courbe noire), la relation de dispersion est représentée par une droite qui dépend à la fois de l'angle et de l'indice de réfraction du substrat. Il devient possible de coupler une onde lumineuse incidente aux ondes de surface. Pour un angle d'incidence précis, la composante parallèle du vecteur d'onde incidente est égale au vecteur d'onde des plasmons de surface.

$$k_{x\_Substrat} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_p} \sin\theta = k_{SP} = \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} \quad (I.13)$$

À cet angle, nommé angle de résonance de plasmons, l'égalité entre les vecteurs d'onde est vérifiée et l'énergie des photons incidents à travers le substrat est convertie pour exciter les plasmons de surface. Ce phénomène de résonance se manifeste par la disparition totale de la réflexion.

Dans ce paragraphe, nous avons montré qu'il est impossible d'exciter les plasmons de surface en éclairant directement le métal avec une onde électromagnétique, et cela quelle que soit la longueur d'onde incidente. Il faut donc implémenter des techniques particulières afin d'exciter le mode plasmons de surface. Ceci est le rôle des systèmes de couplage que nous détaillerons dans la section suivante.

#### 1.1.2.4. Différentes méthodes de couplage

Concrètement, le principe de ces méthodes de couplage repose sur l'augmentation du vecteur d'onde du photon incident ce qui permet de coupler l'onde incidente avec un mode plasmons. Les deux méthodes de couplage les plus utilisées sont le couplage par un réseau et le couplage par prisme.

##### 1.1.2.4.1. Couplage par un réseau

Le couplage par réseau est réalisé en introduisant un réseau métallique de diffraction, caractérisé par une période  $\Lambda$  à l'interface entre un métal et un diélectrique (Figure 1. 7).

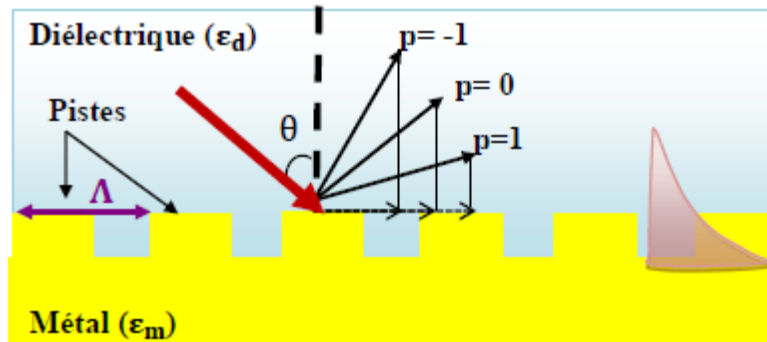


Figure 1. 7 : Réseau métallique de diffraction, formé de pistes métalliques et caractérisé par une période  $\Lambda$ , utilisé pour diffracter l'onde incidente et faire apparaître des ordres de diffraction (représentés par  $p$ ) permettant d'exciter les plasmons de surface.

L'onde incidente sur le réseau est diffractée en faisant apparaître des ordres de diffraction avec des vecteurs d'onde plus élevés. Dans ce cas, les plasmons de surface peuvent être excités sur l'interface réseau /diélectrique, si l'une des ondes diffractées par le réseau a un vecteur d'onde qui coïncide avec la valeur du vecteur d'onde du plasmons de surface.

La valeur du vecteur d'onde supplémentaire provenant du réseau est :  $\vec{k}_g = p \frac{2\pi}{\Lambda} \vec{g}$  où  $p = \pm 1, 2, \dots$  est l'ordre de diffraction et  $\vec{g}$  est un vecteur unitaire. Ce vecteur d'onde supplémentaire s'additionne avec la valeur de la composante parallèle du vecteur d'onde incidente  $k_x$ . Ceci permet de générer les ondes plasmons de surface. La condition du couplage est donnée par la formule suivante :

$$k'_{sp} = k_x + k_g \quad (I.14)$$

$$k'_{SP} = \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} = \frac{\omega}{c} n_d \sin\theta + p \frac{2\pi}{\Lambda} \quad (I.15)$$

avec  $n_d$  l'indice du diélectrique. Il devient alors possible de donner une expression simple de l'angle de résonance en fonction de la longueur d'onde incidente  $\lambda$ .

$$\theta_{res} = \sin^{-1} \left[ \frac{1}{n_d} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} - \frac{p\lambda}{n_d \Lambda} \right] \quad (I.16)$$

L'examen des courbes de dispersion (Figure 1. 8) met en lumière l'intersection du plasmon de surface (courbe bleue) et les courbes de diffraction de réseau ( $p = \pm 1, 2$ ) ce qui prouve que le couplage peut se faire pour plusieurs ordres de diffraction.

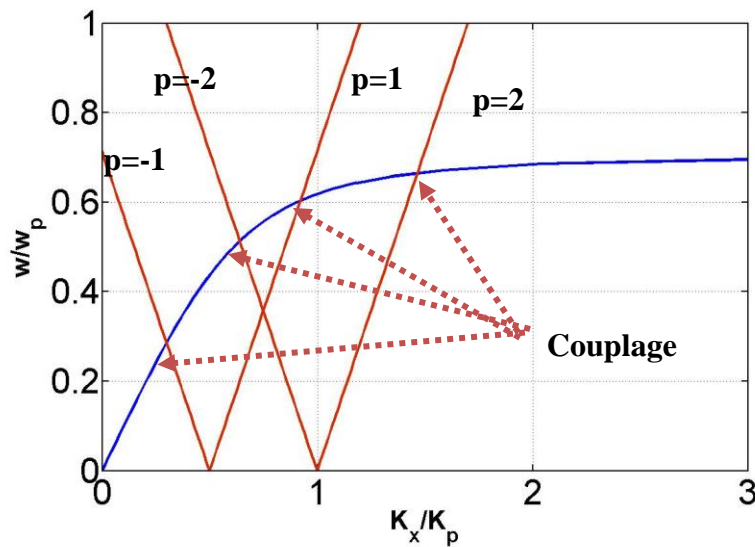


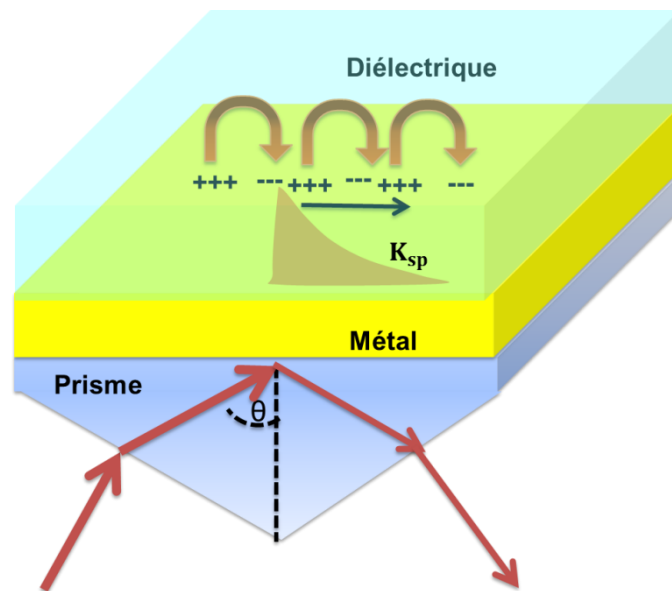
Figure 1. 8 : Relation de dispersion d'un plasmon de surface généré par un réseau de diffraction

Le couplage par réseau est une méthode utilisée pour générer des plasmons de surface capables de détecter les interactions biomoléculaires (Dostálek et al. 2005; Telezhnikova et al. 2006; Dostálek et al. 2007). Cependant, la lumière incidente est du même côté de l'interface que l'onde plasmon de surface. Ceci est considéré comme un inconvénient car la lumière incidente doit passer par l'échantillon biomoléculaire ce qui limite la méthode à des échantillons transparents et non diffusants.

#### 1.1.2.4.2. Couplage par un prisme

La configuration de Kretschmann basée sur la méthode de la réflexion totale atténuée représente la technique de couplage la plus utilisée dans les dispositifs commerciaux des capteurs à lecture plasmonique disponibles actuellement.

Cette technique de couplage, précédemment introduite et à titre d'exemple dans le paragraphe (1.1.2.3), consiste en l'utilisation d'un prisme de verre d'indice de réfraction élevé (généralement supérieur à 1.5) sur lequel on dépose directement une couche métallique. Cette configuration permet d'exciter les plasmons à la surface entre un métal et un diélectrique (Figure 1. 9).



**Figure 1. 9: Couplage d'une onde incidente d'angle  $\theta$  avec les plasmons de surface pour un système prisme-métal-diélectrique basée sur la configuration de Kretschmann.**

En effet, supposons que nous avons seulement le prisme en contact direct avec le milieu diélectrique sans la couche métallique, le passage de la lumière à travers le prisme pour des angles supérieurs à l'angle critique  $\theta_c$  conduit à l'observation de la réflexion totale interne et la création d'ondes évanescentes à l'interface séparant le prisme et le milieu extérieur. Dans le cas de l'insertion d'une couche métallique, l'onde évanescente doit d'abord traverser la couche métallique pour exciter les électrons du métal et générer les plasmons à l'interface métal-diélectrique. Ceci révèle le rôle critique que peut jouer l'épaisseur du métal dans cette configuration. Nous reviendrons plus en détail sur l'importance de ce paramètre dans le chapitre suivant.



L'augmentation de la composante parallèle du vecteur d'onde du photon incident  $k_x$  qui permet de coupler l'onde incidente avec un mode plasmons pour le système prisme-métal-diélectrique se traduit par l'équation de couplage suivante :

$$k_x = k_{SP} \Leftrightarrow \frac{\omega}{c} n_p \sin\theta = \frac{\omega}{c} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} \quad (\text{I.17})$$

où  $n_p$  est l'indice de réfraction du prisme. L'équation de couplage met en évidence les conditions de résonance qui doivent être vérifiées. L'angle de résonance, qui est la conséquence du transfert d'énergie entre l'onde incidente et l'onde de surface qui se propage sur l'interface métal/diélectrique, est donné par l'expression suivante :

$$\theta_{\text{res}} = \sin^{-1} \left[ \frac{1}{n_p} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2} \right] \quad (\text{I.18})$$

La méthode de Rouard, qui sera détaillée dans le chapitre suivant, permet de calculer la réflectivité dans des systèmes multicouches en se basant sur les équations de Fresnel. La simulation de la réflectivité pour un premier système basé sur un prisme (SF10) et diélectrique (eau) puis la simulation pour un deuxième système basé sur un prisme (SF10) et diélectrique (eau), mais en intercalant cette fois-ci une couche métallique en or d'épaisseur 50 nm, permet de faire la comparaison entre la réponse des deux systèmes en terme de réflectivité.

La réflectivité de ces deux systèmes est calculée comme étant le rapport de la réflectivité en polarisation TM divisée par la réflectivité en polarisation TE. Le cas montré dans la figure 1. 10 est obtenue pour une longueur d'onde incidente  $\lambda = 850$  nm.

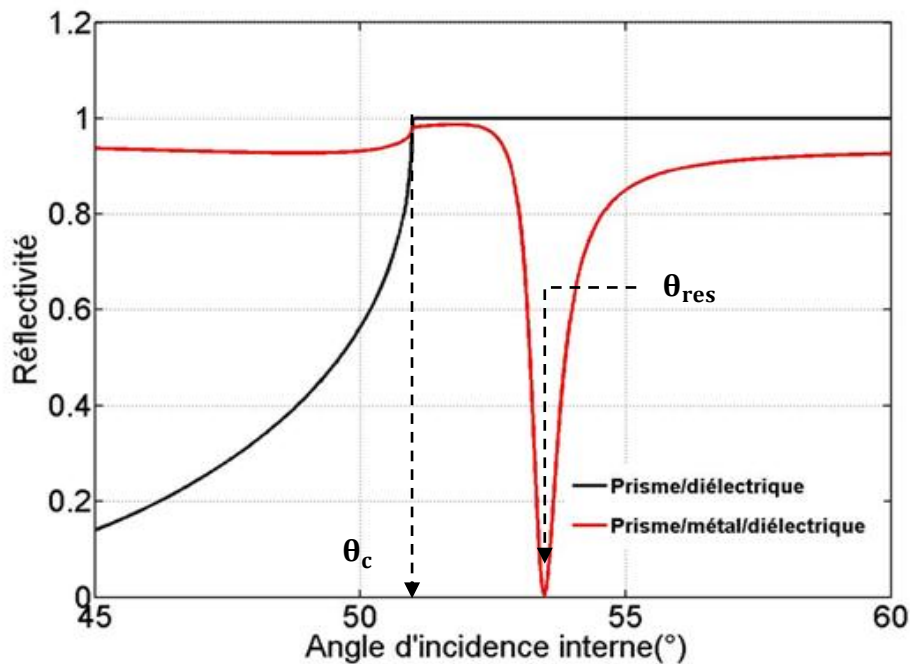


Figure 1. 10: Réflectivité du système prisme /diélectrique (courbe noire). Réflectivité du système prisme /métal/diélectrique (courbe rouge).

La courbe noire qui correspond au premier système prisme /diélectrique présente une réflexion totale interne pour des angles supérieurs à l'angle critique défini par les lois de Snell. En intercalant la couche métallique (deuxième système) une chute de réflectivité est observée (courbe rouge) à un angle  $\theta_{res} = 54^\circ$ . Ceci confirme bien le phénomène de résonance.

#### 1.1.2.5. Grandeurs caractéristique des plasmons de surface

Une fois l'onde de plasmons de surface générée, celle-ci se propage le long de la surface métallique. Cependant, en l'absence de toute rugosité (surface idéale) elle sera progressivement atténuée, à cause de l'absorption du métal caractérisé par sa constante diélectrique complexe. Nous présentons (Figure 1. 11) l'extension spatiale du plasmons de surface à travers le calcul de la partie réelle de la composante  $z$  du champ électrique pour une longueur d'onde incidente  $\lambda = 850 \text{ nm}$ . Nous pouvons en déduire facilement la valeur de la longueur d'onde du plasmon de surface  $\lambda_{SP} = 618.7 \text{ nm}$ .

Une coupe verticale au niveau du champ électrique suivant les pointillés (perpendiculaire à l'interface métal /diélectrique), telle que illustré dans la figure 1. 11, montre qu'en s'éloignant de l'interface métal-diélectrique, le champ électrique décroît exponentiellement. Cependant, l'extension spatiale de l'onde évanescence est plus importante dans le milieu diélectrique. L'onde dans ce cas est donc très sensible aux propriétés optiques du milieu diélectrique.

Il est intéressant de présenter les grandeurs caractéristiques de cette onde pour la conception des biocapteurs. Tout d'abord, l'onde plasmons est caractérisée par la longueur de

propagation  $L_x$  définie comme étant la distance de propagation de l'onde plasmons sur la surface suivant l'axe des X. Cette longueur est donnée par l'expression suivante :

$$L_x = \frac{1}{2k_{sp}''} = \frac{c}{2\omega} \left\{ \operatorname{Im} \left( \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right) \right\}^{-1} \quad (\text{I.18})$$

Cette grandeur joue un rôle important car elle détermine la résolution spatiale des biocapteurs. Elle peut être, dans certains cas, un critère limitant les systèmes d'imagerie à résonance de plasmons de surface (IRPS) (Brockman 2000).

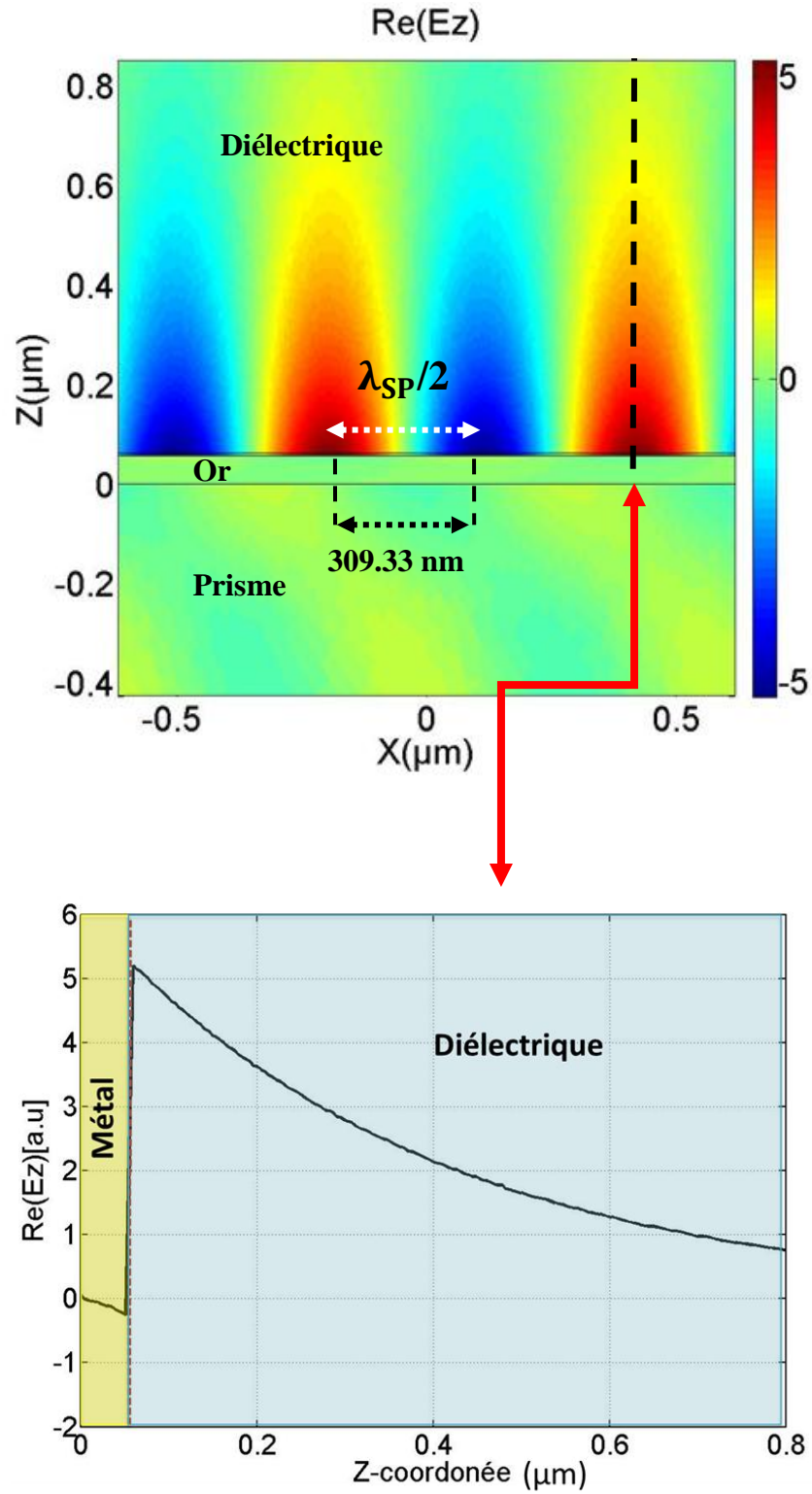


Figure 1. 11 : En haut, nous présentons un calcul la partie réelle de la composante z du champ électrique pour une longueur d'onde incidente  $\lambda = 850 \text{ nm}$  pour une interface métal-diélectrique. En bas nous présentons une coupe verticale de ce champ électrique.

Afin d'illustrer l'impact de la longueur de propagation nous avons choisi de traiter le cas où le milieu diélectrique est l'air, puis le cas où le milieu diélectrique est l'eau. Les calculs sont réalisés pour des longueurs d'onde comprise entre 600 nm et 800 nm et pour le métal nous avons considéré l'or et l'argent. Comme nous pouvons voir sur le graphique, la longueur de propagation dépend du milieu environnant. Plus important encore, elle dépend de la nature du métal. À titre d'exemple, à une longueur d'onde 650 nm  $L_x \approx 5.5 \mu\text{m}$  pour le système or/eau tandis que  $L_x \approx 32 \mu\text{m}$  pour le système argent/eau, ce qui signifie que la longueur de propagation est plus importante dans le cas de l'argent car c'est un métal qui possède moins de pertes dans le visible.

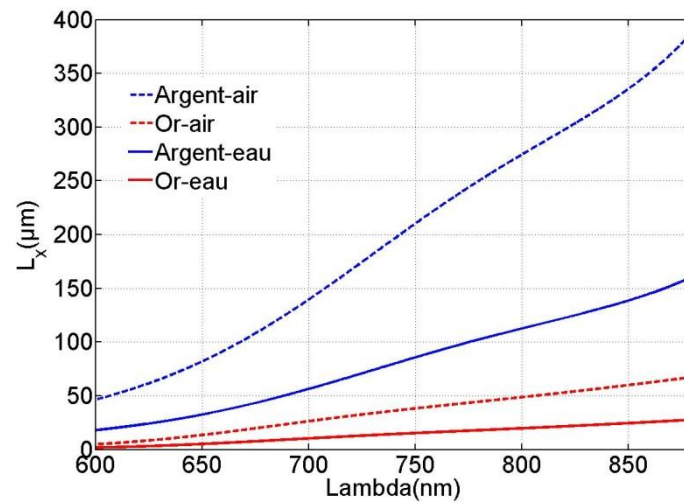


Figure 1. 12: Longueurs de propagation en fonction de la longueur d'onde incidente entre 600 nm et 880 nm pour l'or et l'argent dans un premier cas où le milieu diélectrique est l'air et dans un deuxième cas où le milieu diélectrique est l'eau.

L'augmentation notable de la valeur de la longueur de propagation en fonction de la longueur d'onde incidente est confirmée par des images expérimentales (Figure 1. 13).

Toujours afin d'illustrer l'impact de la longueur de propagation des plasmons sur la résolution spatiale de la IRPS, Jean-Pierre Cloarec et al (Cloarec 2011) ont déposé une solution de 10  $\mu\text{m}$  de diamètre de microsphères en polystyrène sur les puces à RPS revêtues d'or. Étant donné que la profondeur de pénétration du champ évanescent est plus faible que le diamètre des sphères, celles-ci apparaissent comme des objets circulaires de 1 micron pour le système IRPS. Les images de la figure 1. 13 montrent l'effet dramatique de la longueur de propagation des plasmons sur la résolution spatiale de l'imagerie.

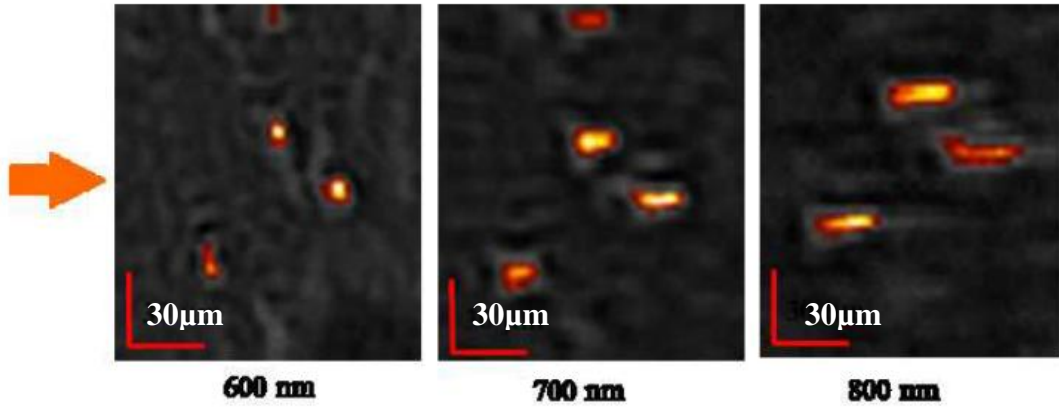


Figure 1. 13: Images de réflectivité SPR prises à différentes longueurs d'onde (600 nm, 700nm, 800nm) de microsphères déposée sur une surface d'or. La flèche indique la direction de propagation des plasmons (Cloarec 2011).

L'onde plasmons est aussi caractérisée par des profondeurs de pénétration (suivant l'axe  $z$ ) respectivement dans les milieux métalliques et diélectriques  $L_{zm}$  et  $L_{zd}$ . Ils correspondent aux distances pour lesquelles l'intensité du champ diminue d'un facteur  $1/e$ .

$$L_{zd} = \frac{c}{2\omega} \left\{ \text{Im} \left( \sqrt{\frac{\epsilon_d^2}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right) \right\}^{-1} \quad (\text{I.19})$$

$$L_{zm} = \frac{c}{2\omega} \left\{ \text{Im} \left( \sqrt{\frac{\epsilon_m^2}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right) \right\}^{-1} \quad (\text{I.20})$$

La profondeur de pénétration (Figure 1. 14) dans le diélectrique renseigne sur la distance pour laquelle l'onde reste encore sensible à la propriété optique du milieu sondé et à toute variation qui se produit dans ce milieu. Elle permet ainsi d'évaluer la capacité des biocapteurs à sonder tout changement dans le milieu externe.

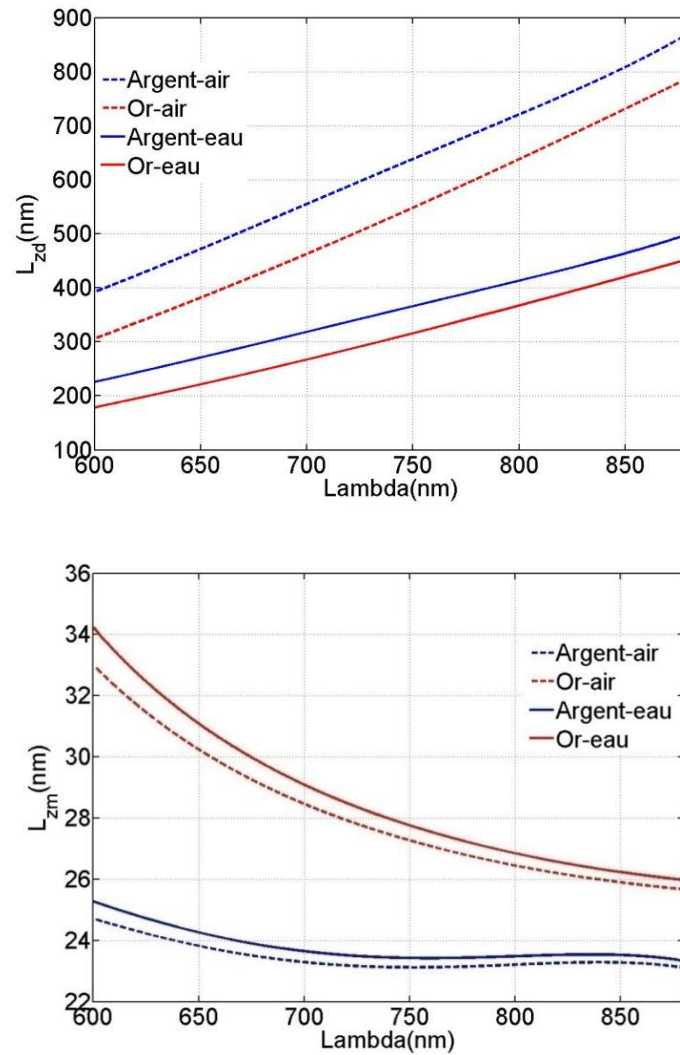


Figure 1.14: Haut: calcul des profondeurs de pénétration  $L_{zd}$  dans les milieux diélectriques (air, eau). Bas: calcul des profondeurs de pénétration  $L_{zm}$  dans les milieux métalliques (or, argent).

### 1.1.3. Biocapteur à résonance de plasmons de surface (mode délocalisé)

#### 1.1.3.1. Historique

Le phénomène de la RPS est resté pendant des années une curiosité scientifique malgré quelques applications pour mesurer les constantes diélectriques des matériaux. C'est seulement en 1983 que Liedberg et Nylander (Liedberg et al. 1995) ont exploité, pour la première fois, la configuration de Kretschmann pour la détection des gaz et des biomolécules. Ces expériences, pionnières des applications contemporaines de la RPS, ont révélé le potentiel de cette technique, dont les applications touchent actuellement un large éventail de domaines (Homola 2008).

#### 1.1.3.2. Description qualitative de la résonance de plasmons de surface

Nous avons déjà vu les différentes méthodes permettant de coupler l'onde incidente et l'oscillation collective des électrons libres du métal à l'interface séparant la surface métallique et le milieu diélectrique. Ce couplage se manifeste par une chute de réflectivité qui traduit le transfert d'énergie entre le faisceau incident et l'onde de surface pour une couche métallique



de 50 nm d'épaisseur. Une coupe de la nappe de réflectivité angulo-spectrale (traits pointillés en blanc dans la figure 1. 15), à une longueur d'onde donnée, par exemple à 850 nm, permet d'observer le comportement de la réflectivité en fonction de l'angle d'incidence. Il est important de noter que pour une longueur d'onde incidente  $> 500$  nm, pour de l'or, le couplage peut être obtenu en réglant l'angle d'incidence. De même, si l'angle d'incidence est fixé (traits pointillés en noir), le couplage  $k'_{SP} = \frac{2\pi}{\lambda} \left( \frac{\epsilon'_m \epsilon_d}{\epsilon'_m + \epsilon_d} \right)^{1/2}$  peut être réalisé en ajustant la longueur d'onde d'excitation.

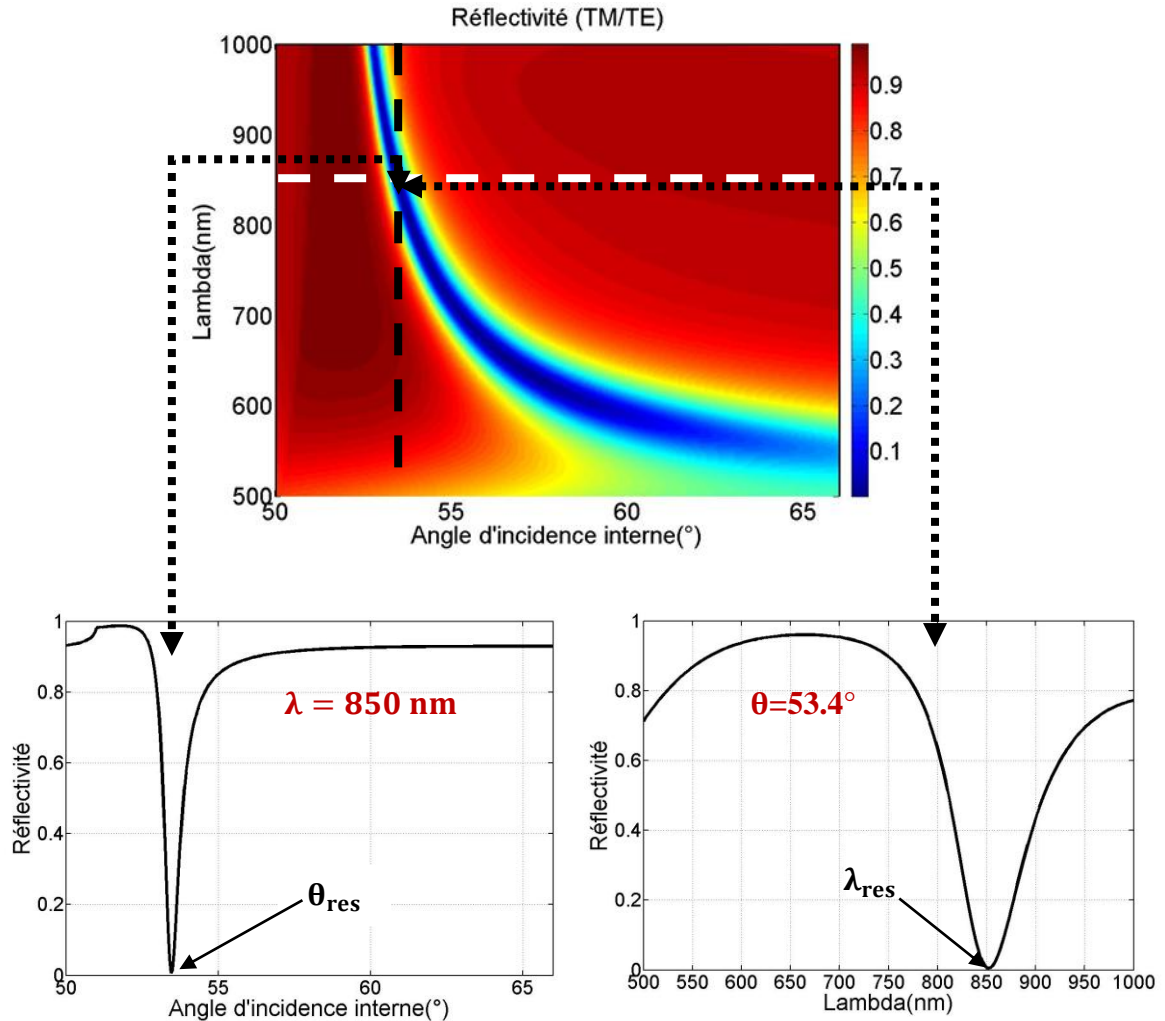


Figure 1. 15: En haut, nappe de réflectivité en fonctions de l'angle d'incidence et de la longueur d'onde. En faisant une coupe (traits pointillés en blanc), à une longueur d'onde fixe, exemple à 850 nm, nous pouvons tracer la réflectivité en fonction de l'angle d'incidence. De même à un angle d'incidence fixé nous pouvons tracer la réflectivité en fonction des longueurs d'onde.

Un changement dans l'indice de réfraction à la surface va entraîner un changement dans la constante de propagation de l'onde plasmonique. Par conséquent, la mesure des variations des propriétés de réflectivité correspondant à la résonance vont permettre de quantifier les perturbations se produisant près de l'interface métal/milieu externe, jusqu'à la limite de détection (de pénétration) de l'onde évanescente.



### 1.1.3.3. Principe de détection

Il est possible de tirer profit du phénomène de la RPS pour la bio-détection, en concevant des biocapteurs permettant la quantification de toutes perturbations à la surface métal/diélectrique engendrant un changement dans le profil de la résonance. Dans le cas pratique de la bio-détection, ces perturbations peuvent provenir de deux causes principales. La première est une variation homogène de l'indice de réfraction  $n_d$  du milieu environnant. Expérimentalement, ce saut d'indice  $\Delta n$  est provoqué par l'injection (circulation) d'un produit de nature ou de composition différente (Figure 1. 16).

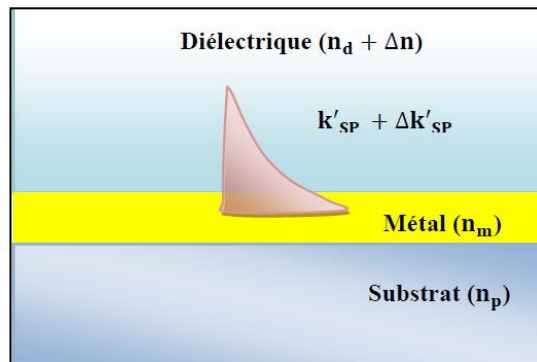


Figure 1. 16: Principe d'une perturbation due à variation homogène de l'indice de réfraction  $n_d$  du milieu environnant

La deuxième cause est une variation due à la détection d'une interaction moléculaire entre deux types de molécules. En effet, après avoir fixé le premier type de molécules sondes, sur le métal avec une chimie de surface adéquate, ces biomolécules forment une couche biologique caractérisée par une épaisseur  $e_1$  et un indice  $n_1$  qui dépendent de la nature et de la taille des sondes (Figure 1. 17-A). En présence d'une solution contenant des molécules cibles, l'interaction sonde-cible se traduit par une augmentation de la concentration des éléments biologiques à l'interface, ce qui engendre une augmentation de l'indice de réfraction et de l'épaisseur de la couche biologique. La biopuce est ainsi assumée comme un empilement de couches d'indice et d'épaisseur variables (Figure 1. 17-B).

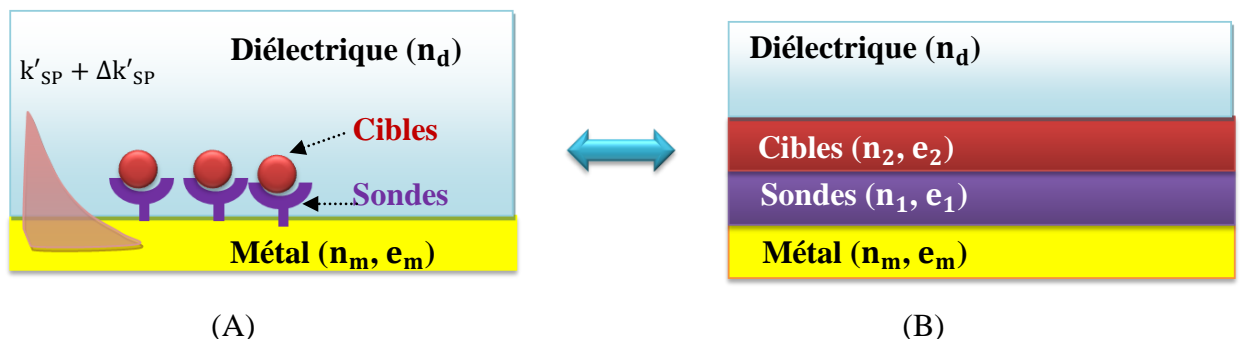


Figure 1. 17: Principe d'une perturbation engendrée par une interaction biomoléculaire à la surface d'une biopuce à RPS. (A) Formation d'une première couche biologique due à l'immobilisation des sondes et d'une deuxième couche biologique due à l'accrochage des cibles. (B) Modèle d'empilement de couches d'indice et d'épaisseur variables.

1.1.3.4. Différentes méthodes de détection (spectrale, angulaire, angulo-spectrale, suivi dynamique d'interaction)

1.1.3.4.1. *Interrogation angulaire*

Les ondes plasmons de surface servent comme sondes pour les perturbations survenant à la surface métallique. En effet, une perturbation au voisinage de la surface engendre une variation dans les conditions de couplage qui se traduit concrètement par les variations des propriétés de la chute de réflectivité : un décalage angulaire de la courbe de réflectivité. En d'autres termes, l'interrogation angulaire permet le suivi de l'angle de résonance à une longueur d'onde fixée et de remonter ainsi à l'information concernant l'évolution de l'interaction biomoléculaire étudiée en quantifiant les perturbations à l'interface métal/diélectrique (Miura et al. 2003) (Herminjard et al. 2009). Cette technique est illustrée sur la figure 1. 18 où est présentée la réflectivité du mode TM, normalisée par la réflectivité du mode TE, d'une couche mince d'or (50 nm), fixée sur la base d'un prisme en SF10 et en contact avec un milieu diélectrique (eau). La courbe en noir donne la réflectivité avant une perturbation et la courbe en rouge correspond à la réflectivité angulaire après la perturbation (Figure 1. 18-A). À une longueur d'onde fixe de  $\lambda = 850$  nm, un décalage angulaire de l'ordre de  $\Delta\theta \approx 0.63^\circ$  est visualisé. Il est induit par un changement de l'indice du milieu environnant de  $n_d = 1.33$  à  $n_d = 1.34$  ce qui correspond à un saut d'indice de  $\Delta n = 10^{-2}$  RIU. De même, un décalage angulaire de l'ordre de  $\Delta\theta \approx 1.05^\circ$  est observé lors du dépôt d'une couche biologique dû à l'immobilisation des molécules cibles sur la surface métallique. Nous considérons dans notre cas que les cibles sont des brins d'ADN formant une couche biologique avec un indice de réfraction  $n_b = 1.48$  et d'épaisseur choisie à titre d'exemple  $e_b = 10$  nm (Figure 1. 18-B).

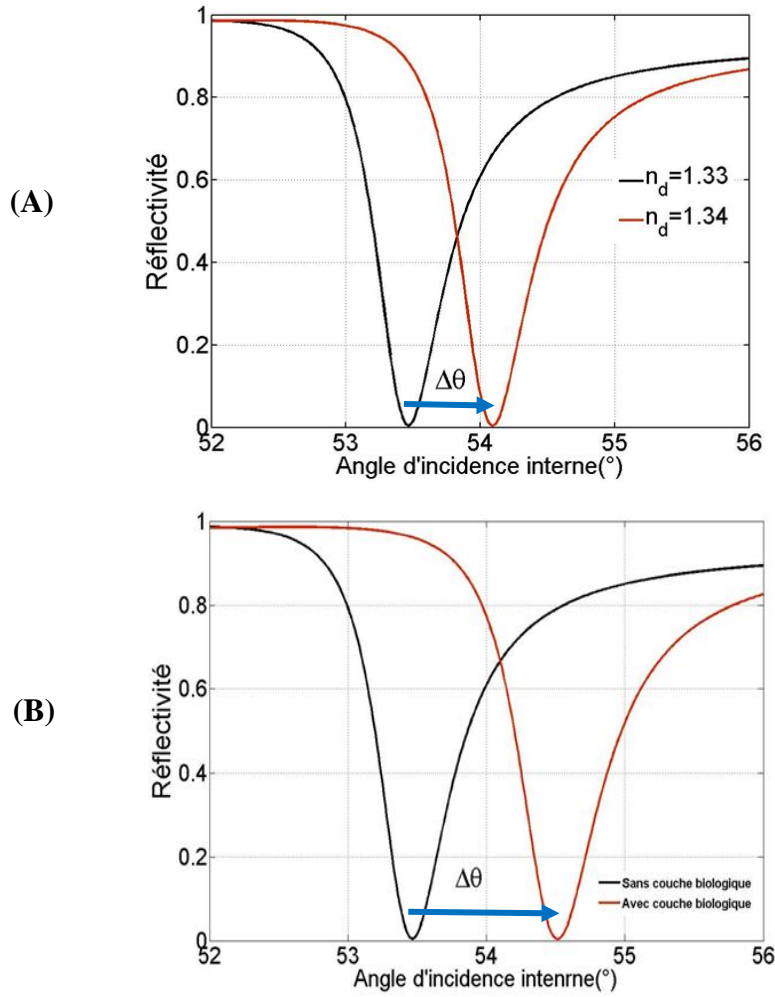


Figure 1. 18: (A) Décalage angulaire dû à un saut d'indice  $\Delta n = 10^{-2}$  RIU. (B) Décalage angulaire engendré par le dépôt d'une couche biologique sur la surface métallique.

Pour mesurer ces variations, il est possible d'utiliser un dispositif, dit : « mono-capteurs », qui est le dispositif à lecture plasmonique le plus ancien. Nous présentons ici ce montage (Figure 1. 19) permettant de réaliser l'interrogation angulaire, i.e. mesurer la réflectivité à une longueur d'onde fixée. Ce dispositif a été le premier à être développé dans notre laboratoire. La source est un laser qui émet une longueur d'onde  $\lambda=633$  nm. Le faisceau, polarisé TM, est ensuite partagé en deux : la première partie est réfléchi et envoyée sur une première photodiode de mesure, la deuxième partie du faisceau est dirigée vers une deuxième photodiode de référence. Celle-ci est utilisée pour suivre les fluctuations au cours du temps et permettre la normalisation du faisceau mesuré par la photodiode de mesure. Le faisceau incident balaye différents angles d'incidence grâce aux platines de rotation. Une lecture du signal de la photodiode permet d'afficher la réflectivité en fonction de l'angle d'incidence et offre ainsi la possibilité de remonter à la valeur de l'angle de résonance correspondant à la réflectivité minimale mesurée. (Un exemple d'un dispositif mono-capteur sera détaillé dans le deuxième chapitre).

Il existe un montage commercial équivalent qui est principalement fabriqué par Biacore International et commercialisé par Texas Instrument. Ce dispositif se base sur une diode LED émettant un faisceau incident, non-collimaté, qui éclaire la surface métallique selon différents angles d'incidence. Le signal réfléchi est envoyé ensuite sur une barrette de photodiodes, ce qui permet de mesurer la réflectivité angulaire en une seule fois et donc un gain au niveau du temps de mesure. Ceci est dû à l'immobilisation de l'ensemble : cuve, prisme et fluide. Ceci étant, les mesures prises par le mono-capteur correspondent en général à une valeur moyenne sur une région qui a la même largeur que celle du faisceau incident sur la surface. Ils servent principalement à caractériser la lame d'or et à visualiser le phénomène de plasmons de surface. Bien qu'utiles, les mono-capteurs ne répondent pas aux besoins médicaux pour une analyse simultanée de multiples réactions biomoléculaires.

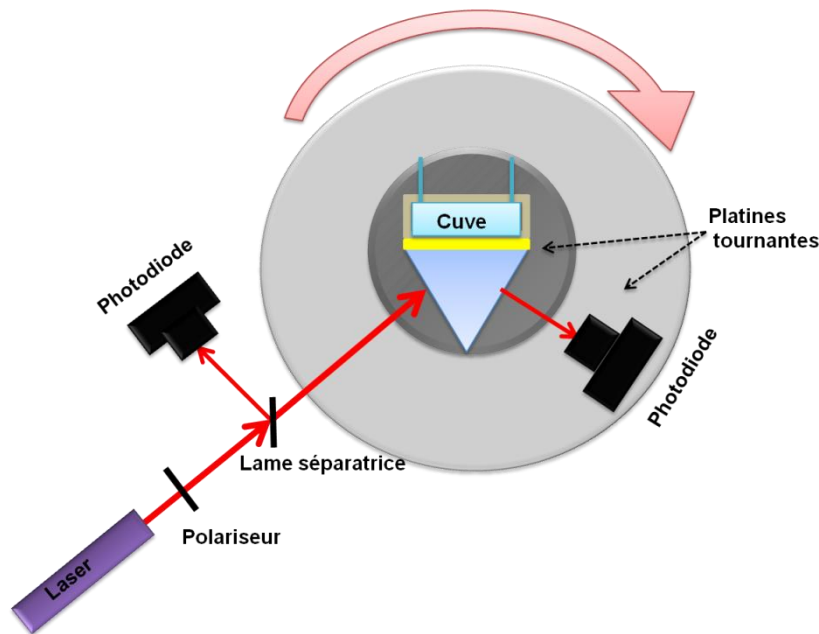


Figure 1. 19: principe de montage d'un dispositif mono-capteurs

#### 1.1.3.4.2. Interrogation spectrale

Comme nous l'avons déjà mentionné, le couplage entre l'onde incidente et les plasmons de surface peut aussi être réalisé en fixant l'angle d'incidence et en variant la longueur d'onde incidente. Le spectre de réflectivité est ainsi caractérisé par une bande spectrale absente. Dans ce cas, la longueur d'onde de résonance correspond au minimum du signal de réflectivité. L'interrogation spectrale permet donc le suivi de la position spectrale associée au minimum de réflectivité, à un angle fixe (Jung et al. 1998) (Taylor et al. 2006) (Hegnerová et al. 2009). Cette variation, similairement à l'interrogation angulaire, permet de quantifier les perturbations à l'interface du métal/diélectrique. Ceci est illustré sur la figure 1. 20 qui représente la réflectivité en fonction de la longueur d'onde incidente pour la même configuration étudiée dans le paragraphe précédent. Le calcul de la réflectivité se fait pour différentes longueurs d'onde allant de 600 nm jusqu'à 1100 nm pour un angle fixe de 53.43°.

Un changement d'indice  $\Delta n = 10^{-2}$  RIU engendre un décalage de  $\Delta \lambda = 64$  nm vers les longueurs d'onde les plus grandes. De la même manière, la figure met en évidence un

décalage de  $\Delta\lambda = 120$  nm engendrée par le dépôt d'une couche biologique ( $n_b = 1.48$  et  $e_b = 10$  nm)

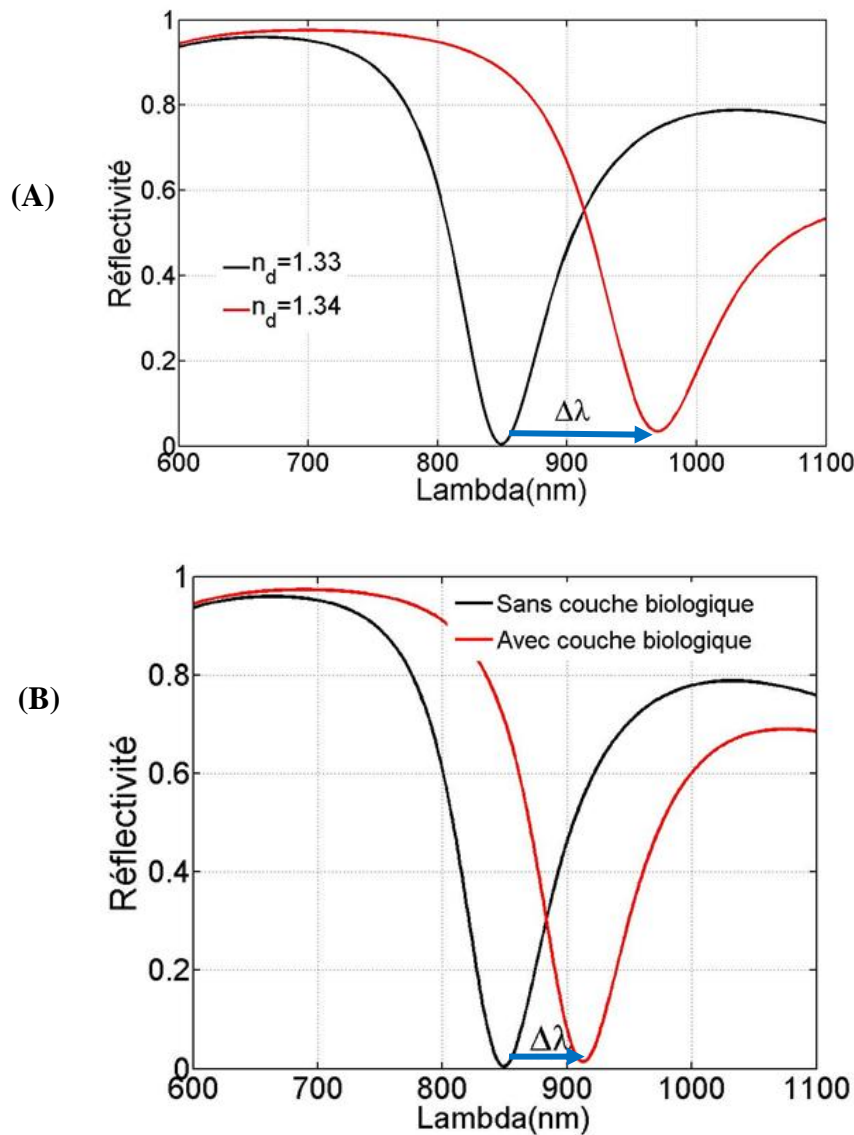


Figure 1. 20: (A) Décalage spectral dû à un saut d'indice  $\Delta n = 10^{-2}$  RIU pour un prisme SF10 et une épaisseur d'or de 50 nm, à un angle de  $53.4^\circ$ . (B) Décalage spectral engendré par le dépôt d'une couche biologique sur la surface métallique.

Nous présentons (Figure 1. 21) l'exemple d'un montage très simple montré dans la littérature et se basant sur une source de lumière polychromatique (source de lumière blanche) émettant un faisceau qui éclaire la surface du métal après avoir été collimaté par une lentille. Le faisceau réfléchi converge via une lentille sur l'entrée d'un spectromètre, permettant ainsi la mesure et l'analyse du spectre de la lumière réfléchi et la détermination de la longueur d'onde de résonance.

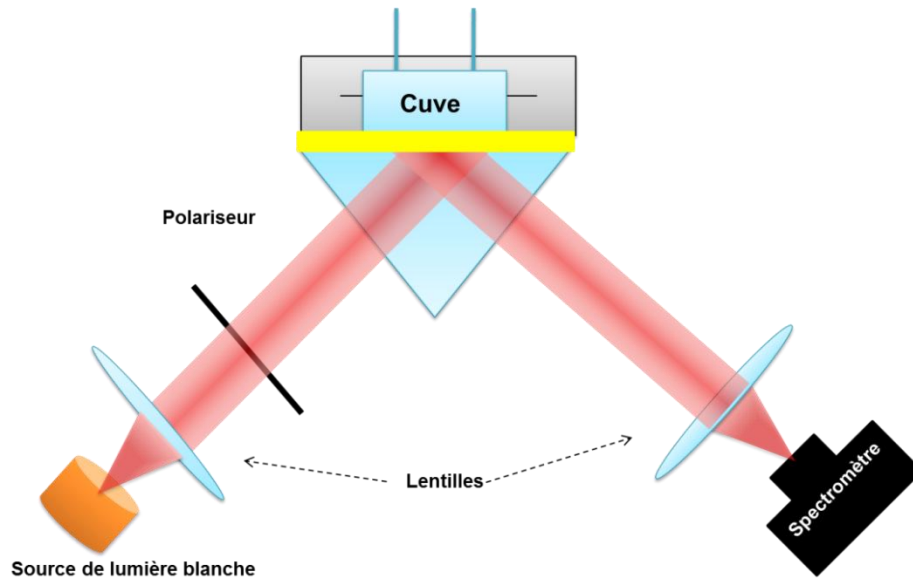


Figure 1. 21: Principe de fonctionnement d'un dispositif permettant la détection par interrogation spectrale

D'une manière générale, l'interrogation spectrale et l'interrogation angulaire sont deux techniques utilisées pour valider l'existence ou l'absence d'une seule réaction biologique entre sondes-cibles ou bien pour mettre en évidence un changement dans le milieu externe. Cependant ces deux techniques ne répondent pas aux besoins des biologistes qui désirent suivre en temps réel le déroulement simultanément de plusieurs interactions. Étant donné le temps de balayage angulaire ou spectral, ces systèmes permettent généralement de mesurer la réflectivité seulement avant et après la réaction. Pour remédier à ce problème et offrir la possibilité de suivre l'évolution des réactions, nous avons intérêt à utiliser une technique nommée « interrogation en réflectivité » qui est présentée dans la section suivante.

#### 1.1.3.4.3. Interrogation en réflectivité et dynamique d'interaction

L'interrogation en réflectivité est une méthode qui consiste à suivre au cours du temps, pour un angle d'incidence et une longueur d'onde choisie, l'évolution de la réflectivité. Cet angle correspond à l'angle de travail  $\theta_{tr}$  qui permet de profiter d'une sensibilité de mesure maximale (Figure 1. 22) en se positionnant dans des conditions où une perturbation, suite au dépôt d'une couche biologique, engendre une modification maximale dans la courbe de réflectivité.

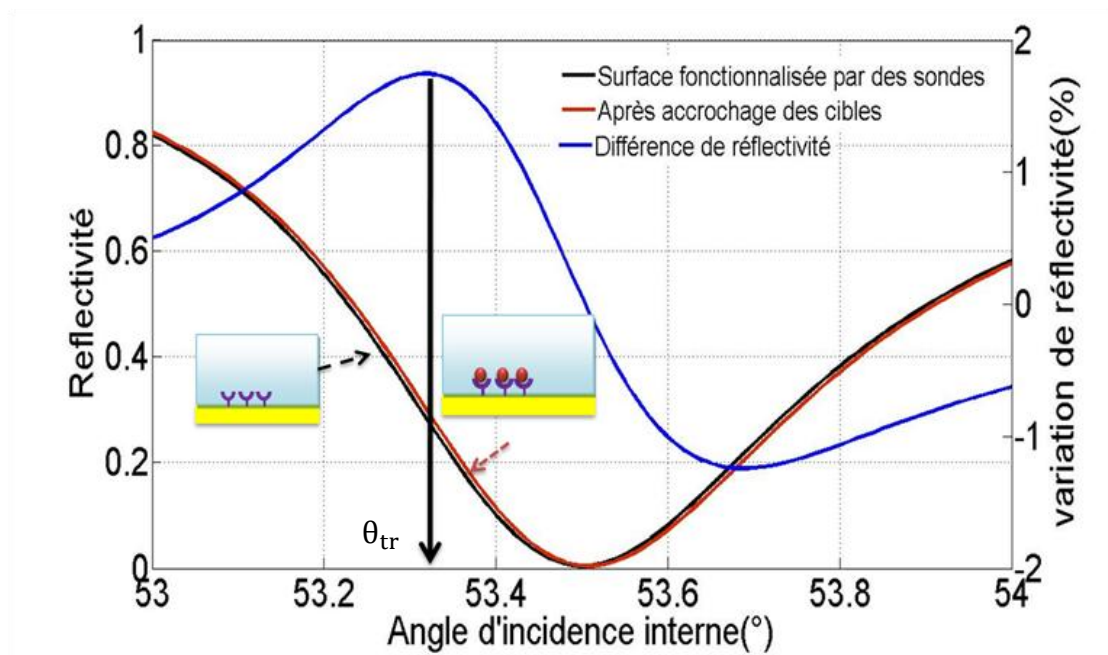
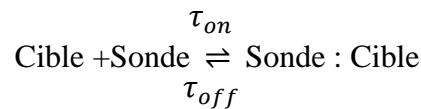


Figure 1. 22: Principe de détection se basant sur l'interrogation en réflectivité. La courbe noire désigne la réflectivité de la puce après avoir déposé les sondes. La courbe rouge représente la réflectivité de la puce après l'interaction sonde –cibles. Finalement, la courbe en bleue souligne la différence de réflectivité due à l'accrochage des cibles.

Suivre les interactions biomoléculaires d'une manière dynamique se fait ainsi à travers le suivi du maximum de la variation de réflectivité, au cours du temps, ce qui permet de tracer la cinétique d'une réaction chimique (Maillart, Brengel-Pesce et al. 2004)(Figure 1. 23):



et de déchiffrer ainsi la signature cinétique de l'interaction biomoléculaire qui est définie, dans le cas simple d'une réaction de 1<sup>ère</sup> ordre, par 4 valeurs  $\tau_{on}$ ,  $\tau_{off}$ ,  $Q_d$ ,  $Q_s$ , où  $\tau_{on}$  et  $\tau_{off}$  sont des constantes du temps associées respectivement à la phase de l'association sondes-cibles et la phase de rinçage.  $Q_d$  et  $Q_s$  représentent les signaux mesurés respectivement durant la phase de l'interaction sondes-cibles et durant la phase de rinçage.



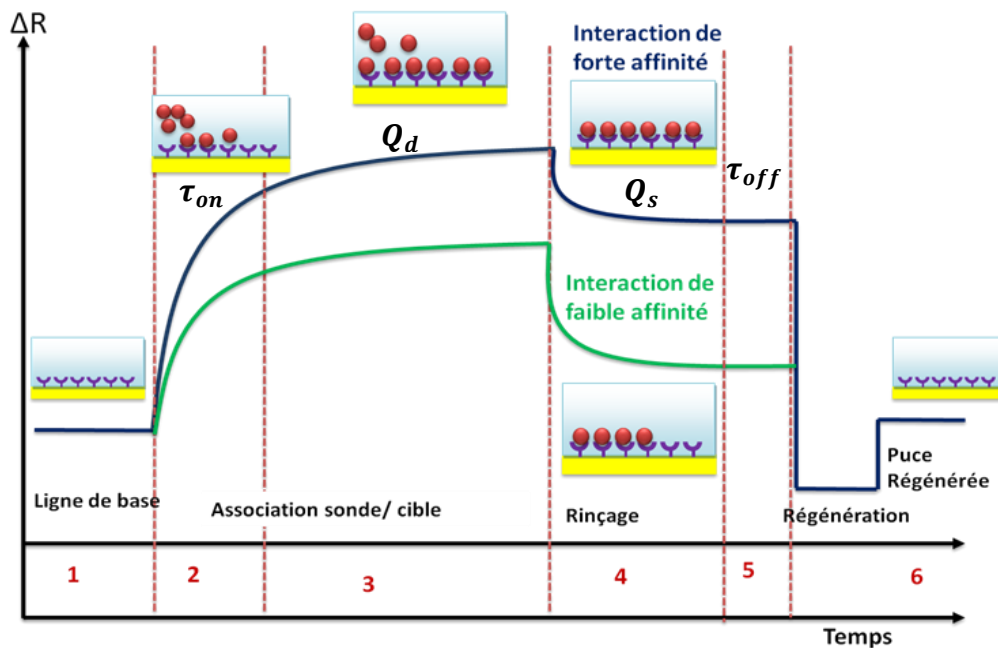


Figure 1. 23: chaque cinétique commence par la ligne de base où les sondes sont fonctionnalisées à la surface de la biopuce. En injectant les cibles, la réaction cible-sonde se traduit par une stabilisation du signal. Ensuite le rinçage permet l'élimination de l'excès des cibles et la stabilisation du signal. Enfin la régénération de la surface pour une nouvelle mesure : la courbe bleue est associée à une interaction biomoléculaire de forte affinité par contre la courbe verte est associée à interaction biomoléculaire de faible affinité (plus grand  $\tau_{off}$ )

La mesure de la cinétique permet donc la détermination des coefficients d'association et de dissociation, ce qui conduit à caractériser la nature de la réaction et de remonter au degré de l'affinité des biomolécules mises en jeu dans la réaction. Nous illustrons (Figure 1. 23) le contraste entre une cinétique associée à une forte interaction biomoléculaire pour un couple sonde-cible ayant une grande affinité et une cinétique associée à une faible interaction biomoléculaire pour un couple sonde-cible ayant une faible affinité.

Concrètement, chaque cinétique peut se décomposer en 6 étapes :

- La première étape consiste à l'injection du milieu tampon neutre. Cette étape est importante car elle permet la mesure de la réflectivité de la puce en tenant compte de l'existence des sondes déjà fonctionnalisées sur sa surface et du bruit associé à la mesure. Ceci se traduit par une ligne de base au début du cycle de mesure.
- La deuxième étape est l'introduction de la solution contenant le milieu tampon dans lequel sont diluées les cibles. Durant cette phase, une augmentation du signal au niveau des zones fonctionnalisées est observée.
- La troisième étape est caractérisée par une phase d'équilibre durant laquelle il y a autant de couples sondes- cibles qui s'accrochent que de couples qui se décrochent ce qui justifie la mesure d'un signal quasi-constant.
- La quatrième étape consiste en l'injection de la même solution tampon que la première étape afin de rincer et éliminer les molécules cibles en excès.



- La cinquième étape est une étape d'équilibre où les molécules restantes sur la surface sont celles accrochées d'une manière forte.
- La sixième étape consiste à utiliser une solution adaptée à la nature des interactions. L'injection de cette solution permet à la surface d'être régénérée, pour pouvoir la réutiliser une autre fois. Une régénération se traduit par la dissociation des cibles, engendrant ainsi un retour du signal au niveau de la ligne de base.

#### 1.1.4. Imagerie par résonance de plasmons de surface (IRPS)

Le développement d'un dispositif multi-points basé sur la RPS est indispensable pour le franchissement des limites des mono-capteurs et répondre à la nécessité de l'étude simultanée de plusieurs interactions biomoléculaires se déroulant à la surface d'une biopuce (Nelson, Grimsrud et al. 2000; Mannelli *et al.* 2006). L'idée consiste donc à ajouter un module d'imagerie en temps réel de sorte que la réflectivité puisse être suivie sur tous les points de la surface d'or avec une résolution temporelle et spatiale optimale. Le système d'imagerie est donc potentiellement capable de fournir des informations au cours du **temps (t)** sur la réflectivité d'une zone spatiale définie par **sa position (x, y)** sur la puce pour un **angle du faisceau incident  $\theta_i$  donné** et **une longueur d'onde incidente  $\lambda_i$** .

Différentes molécules biologiques peuvent être étudiées grâce à l'IRPS. Dans notre équipe, l'accent est mis sur l'étude de l'interaction ADN-ADN qui est un modèle type d'une interaction biomoléculaire servant à valider le fonctionnement du système d'imagerie dans le cadre du diagnostic des maladies génétiques comme la mucoviscidose. La fonctionnalisation chimique de la surface est une étape très importante. Elle a comme rôle l'accrochage des brins d'ADN (biotinylées) sous forme de plots sur la surface métallique. Cette étape consiste à couvrir la surface de la puce par une monocouche auto-assemblée permettant de garantir une liaison forte entre les sondes et la surface durant toutes les étapes de mesure en assurant leur résistance aux différents traitements chimiques. Dans notre équipe, la fonctionnalisation chimique utilisée en premier temps est celle basée sur le Dextran (Hottin 2009) et en deuxième temps celle basée sur la Cysteamine (Spadavecchia et al. 2009), qui est développée par Jolanda Spadavecchia. Le dépôt des molécules sondes biotinylées s'effectue avec un appareil de dépôt matriciel de grande précision nommé « spotter ». Après avoir préparé la surface de la puce, l'accrochage de celle-ci sur le prisme se fait à l'aide d'une huile. Pour suivre en temps réel les interactions dues à l'injection des brins d'ADN complémentaires à travers le système fluidique, le dispositif d'IRPS doit disposer essentiellement d'une **source lumineuse** émettant un faisceau lumineux avec une longueur d'onde choisie de telle manière à avoir un compromis entre la sensibilité de la puce et la résolution latérale qui limite la densité des plots sur la surface de la puce. L'utilisation d'un laser comme source lumineuse engendre un fourmillement lumineux « speckle » observé dans les images à cause de sa longueur de cohérence spatiale élevée. Étant donné que les Diodes ÉlectroLuminescente (LED) possèdent une largeur spectrale de l'ordre de 20 nm, elles sont préférées dans les systèmes d'imagerie. L'utilisation d'une source de lumière blanche et d'un monochromateur permettant de sélectionner une longueur d'onde est aussi possible. Cette méthode, utilisée par notre équipe, permet de réaliser une imagerie spectrale. Ses avantages sont soulignés en

détails dans le chapitre 2. Le **polariseur** est utilisé pour polariser la lumière en mode TM ou TE. De son côté, le **miroir motorisé rotatif** contrôlé permet de fixer l'angle d'incidence du faisceau lumineux sur la puce. Le dispositif est aussi composé d'**un premier système optique** qui permet de conjuguer le miroir avec la surface métallique et d'**un deuxième système optique** qui permet de conjuguer la surface avec le capteur. Finalement, la capture et l'acquisition d'une succession d'images de la surface de la puce se font par **une caméra CCD** (Charged Coupled Device). Ceci permet d'enregistrer l'évolution au cours du temps de la réflectivité de chaque plot, en offrant ainsi la possibilité de suivre la cinétique des réactions.

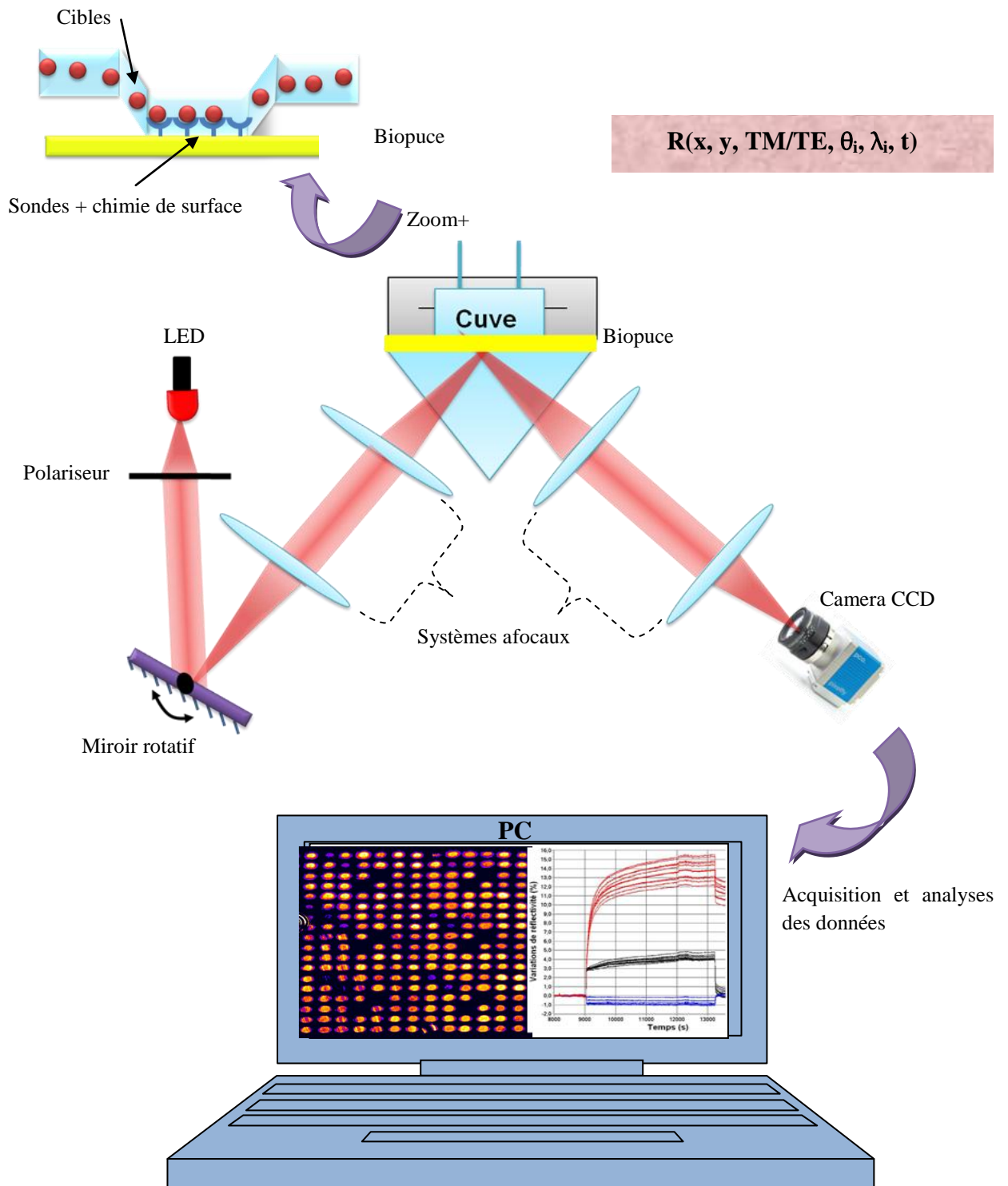


Figure 1. 24:Schéma de principe d'un dispositif d'imagerie à résonance de plasmons de surface

### 1.1.5. Performances des biocapteurs à RPS

Les caractéristiques principales permettant de comparer le fonctionnement et la performance des biocapteurs à RPS sont la sensibilité, la résolution, la linéarité, la reproductibilité et la plage dynamique (Homola et al. 1999). Dans ce paragraphe, nous allons insister sur deux notions.

La première notion est la sensibilité 'S' d'un détecteur RPS qui représente le rapport entre la variation du signal  $\Delta x$  issu d'un biocapteur (exemple : une variation angulaire  $\Delta\theta$ , une variation spectrale  $\Delta\lambda$ , une variation de réflectivité  $\Delta R$ ) et la grandeur à mesurer  $\Delta y$  (par exemple un saut d'indice  $\Delta n$ ).

$$S = \frac{\Delta x}{\Delta y} \quad (I.21)$$

Au cours de notre travail, la sensibilité à l'adsorption d'une couche biologique est choisie à partir de l'expression suivante :  $\Delta R \text{ (\% / nm)} = |\Delta R_{\max}| / \Delta e$  où  $\Delta R_{\max}$  est la variation maximale de la réflectivité et  $\Delta e$  est l'épaisseur de la couche biologique. De la même manière la sensibilité à une variation de l'indice de réfraction du milieu diélectrique couvrant, est définie de la manière suivante:  $\Delta R \text{ (\% / RIU)} = |\Delta R_{\max}| / \Delta n$  où  $\Delta n$  est un saut d'indice dû à une variation d'indice de réfraction du milieu diélectrique en RIU (Refractive Index Unit).

La deuxième notion est la résolution 'RES' des détecteurs à RPS, qui est définie par la plus petite variation de l'indice de réfraction mesurable qui produit un changement détectable par le biocapteur. Elle est exprimée en RIU. La résolution d'un capteur est généralement donnée en fonction d'un terme qui traduit l'effet du bruit total 'B' à la sortie du biocapteur pour une mesure (survenant lors de l'utilisation des instruments) divisée par la sensibilité 'S' du capteur définie précédemment.

$$RES = \frac{B}{S} \quad (I.22)$$

Le bruit dans les biocapteurs à RPS provient principalement des variations aléatoires de l'intensité de lumière émise par la source excitatrice (bruit de photon) ainsi que, dans une plus faible mesure, par le bruit généré par le circuit électronique du détecteur.

Pour qu'un biocapteur soit performant, sa sensibilité doit être la plus grande possible avec un faible bruit de mesure. Ceci se traduit donc par une très faible valeur de la résolution reflétant une grande capacité à sonder la perturbation externe (dépôt d'une couche biologique, variation d'indice).

## 1.2. Limitation physique des biocapteurs conventionnels basés sur la RPS

Piliarik et Homola (Piliarik et al. 2009) ont calculé la résolution théorique ultime, en terme de la variation d'indice, pour différents dispositifs de capteurs à RPS. Afin de faire une comparaison objective entre la résolution de ces différents dispositifs, les auteurs supposent que les mesures sont limitées juste par le bruit du photon et négligent les bruits des capteurs. Les résultats de cette analyse théorique de la résolution ultime sont ensuite comparés aux résultats expérimentaux rapportés par différents groupes de recherche. Ces résultats sont résumés dans la figure 1. 25. Actuellement, les meilleurs capteurs conventionnels se basant sur des plasmons de surface (en mode propagatif) affichent une résolution de l'ordre de  $10^{-7}$  (RIU) en terme de plus petits changements d'indice de réfraction détecté. Surmonter les limites actuelles des capteurs RPS est conditionné par le développement de détecteurs CCD de pointe. La performance des biocapteurs peut également être améliorée par l'optimisation des propriétés optiques des plasmons de surface.

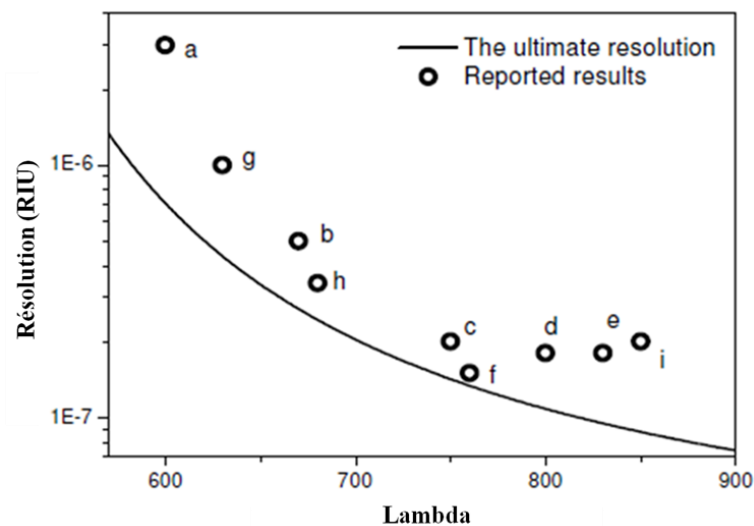


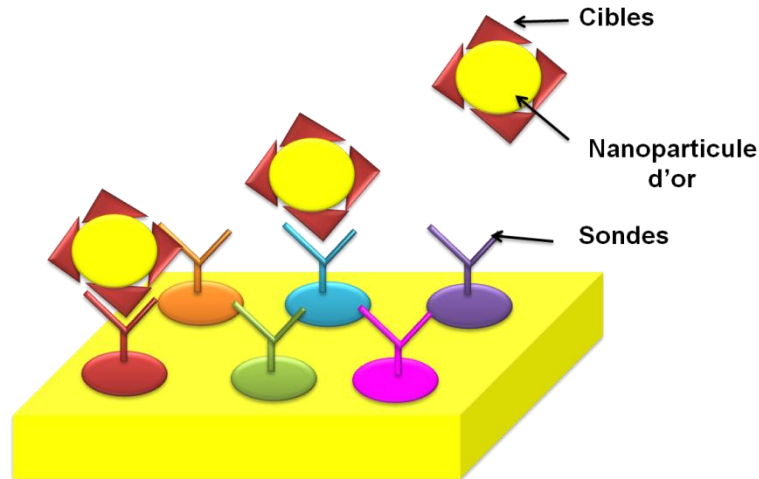
Figure 1. 25: La courbe (noire) présente la résolution ultime calculée à partir des différents biocapteurs basés sur la RPS, comparée ensuite avec les meilleurs résultats expérimentaux rapportés de travaux suivants : (a) (Stemmler et al. 1999), (b) (Thirstrup et al. 2005), (c) (Piliarik et al. 2009), (d) (Garet et al. 2002), (e) (Chinowsky et al. 2003), (f) (Biacore 3000[GE Health care, USA]), (g) (Wu et al. 2004), (h) (Bardin et al. 2009), (e) (Piliarik et al. 2009).

## 1.3. Amélioration de la performance des biopuces conventionnelles à lecture plasmonique

Dans la littérature, plusieurs approches sont proposées pour améliorer la sensibilité d'une biopuce conventionnelle. Nous nous focaliserons sur celle qui consiste à modifier la surface de la puce.

### 1.3.1. Utilisation d'un marqueur

Une des nombreuses pistes pour améliorer la performance de la détection par RPS, consiste en l'accrochage d'un marqueur, mono-particule, sur les cibles avant de les injecter sur la surface de la puce utilisée. La figure suivante schématise la procédure



**Figure 2:** Schéma expliquant le principe d'utilisation des nanoparticules : une puce d'or sur laquelle les sondes sont accrochées. L'injection d'une solution contenant les cibles déjà attachées à des nanoparticules entraîne un plus grand décalage angulaire de la courbe de réflectivité mesurée par RPS.

La présence de ces particules dans le milieu liquide amplifie la variation (contraste) de l'indice de réfraction à cause de l'accrochage des cibles, ce qui engendre un grand décalage au niveau de la courbe de réflectivité. Des expériences réalisées sur l'interaction entre anticorps-antigènes en utilisant des nanoparticules en or (Lyon et al. 1998) ont montré une amplification extraordinaire du signal (décalage de l'angle de résonance) d'un facteur de l'ordre de 28 dans le cas particulier des antigènes attachés à des particules comparée à la simple interaction anticorps-antigènes. Cette technique a permis ainsi la détection de concentration pico-molaire de l'immunoglobuline humaine. Etant données les perspectives prometteuses de cette technique, une large gamme de particules a été étudiée dans la littérature, citons l'exemple des particules métalliques colloïdales (Lyon et al. 1999), les particules en latex (Vries de et al. 1994), et les chromophores (dye-doped polymer) (Hirokazu et al. 2006).

Malgré les avantages de cette technique, l'utilisation des nanoparticules présente plusieurs inconvénients. La principale c'est qu'elle transforme la RPS en un système nécessitant une étape de marquage, ceci contredit l'objectif de la RPS qui a pour but de s'affranchir du marquage des cibles avant la réaction. En outre, l'utilisation des chromophores risque de modifier les propriétés de certaines molécules comme les protéines. Pratiquement, synthétiser les particules métalliques d'une manière reproductible pour réaliser réellement un dispositif de biopuces à base de nanoparticules demeure un grand défi.

### 1.3.2. Excitation des plasmons localisés

### 1.3.2.1. Présentation des plasmons de surface localisés

Il existe une autre classe de plasmon de surface sur des particules ou des structures métalliques de taille nanométrique, de l'ordre du dixième de la longueur d'onde, où les propriétés plasmoniques changent considérablement : nous parlons de plasmons de surface localisés (PSL).

L'une des manifestations des PSL est la coloration des verres par des solutions colloïdales de nanoparticules d'or. La coupe de Lycurgus (Figure 1. 26) représente une des pièces les plus connues. Les récents progrès en chimie colloïdale ainsi que le développement de différentes méthodes de nano-fabrications ont permis la synthèse de nanostructures métalliques composées de nanoparticules, nano-trous, ainsi que d'autres composants avec des formes, tailles et espacements contrôlés avec précision.



Figure 1. 26: Coupe de Lycurgus datant de IV<sup>e</sup> siècle après JC . La coupe est éclairée à gauche en réflexion et à droite en transmission (<http://www.lactualitechimique.org>). Les nanoparticules d'or et d'argents incorporées dans le verre ont des dimensions de l'ordre de 70nm.

Lorsqu'une nanoparticule métallique est soumise à une onde électromagnétique, le champ électrique de l'onde provoque l'oscillation collective des électrons libres de conduction du métal. Ce phénomène est appelé plasmons de surface localisés. Ces oscillations électroniques sont à l'origine du nuage électrique (Figure 1. 27) et sont responsables de la création d'une polarisation  $P$  du milieu ainsi que d'une forte augmentation du champ électrique dans la particule. Les PSL ne sont plus excités dans le cas de très petites nanoparticules de taille de l'ordre de 2 nm.



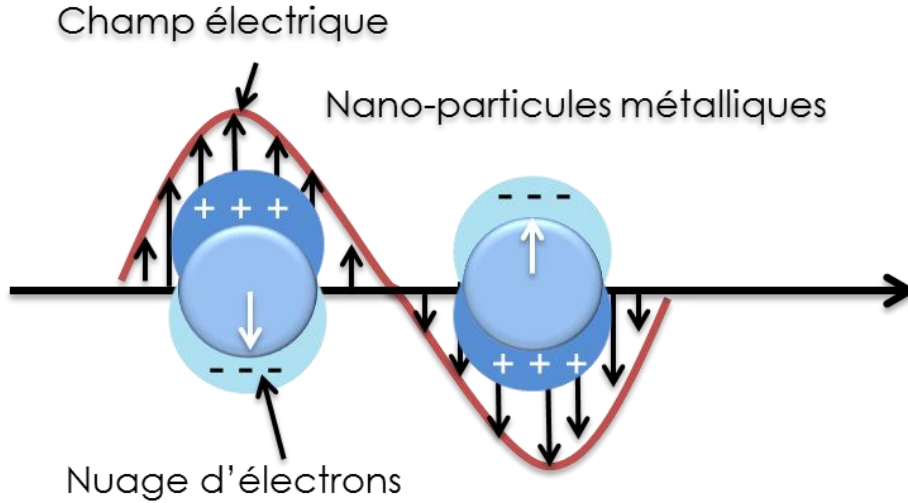


Figure 1. 27: Caractéristiques plasmoniques du mode PSL

#### 1.3.2.2. Propriétés des plasmons de surface localisés

Bien que les plasmons propagatifs et les PSL se basent sur l'oscillation des électrons de surface suivant le champ électrique, les PSL sont caractérisés par certaines propriétés qui leur permettent de se démarquer :

##### 1.3.2.2.1. Longueurs de pénétration nanométrique

En effet, contrairement aux plasmons de surface, qui se propagent sur quelques centaines de micromètres le long de la surface métallique avec un champ électrique qui décroît de manière exponentielle à partir de la surface, les PSL sur des nanostructures ou sur les nanoparticules ne se propagent pas, mais se comportent comme des résonateurs (Stewart et al. 2008). Ils sont donc confinés dans un espace nanométrique.

##### 1.3.2.2.2. Approximation dipolaire

Une nanoparticule métallique, peut être considérée comme un cœur ionique fixe enveloppé par un nuage d'électrons et soumis à un champ électrique extérieur statique et uniforme (Figure 1. 27). Le nuage électronique se déplace dans le sens contraire au champ en induisant un moment dipolaire. En effet, la force de rappel permet à une résonance de se produire à une fréquence spécifique connue comme étant la fréquence du dipôle de la particule plasmonique. Un champ intense s'accumule à l'intérieur de la nanoparticule. Il est homogène dans tout son volume, tandis qu'un champ dipolaire se produit à l'extérieur. Il en résulte une forte diffusion de la lumière. Cette réponse de la nanoparticule au champ électrique incident est décrite par la polarisabilité dipolaire  $\alpha$  (Jain et al. 2006) (Jain et al. 2008) :

$$\alpha = (1 + \kappa)\epsilon_0 V \frac{(\epsilon_m - \epsilon_d)}{(\epsilon_m + \kappa\epsilon_d)} \quad (\text{I.22})$$



où  $V$  est le volume de la particule,  $\epsilon_m$  la constante diélectrique du métal (modèle de Drude),  $\epsilon_d$  est la constante diélectrique du milieu diélectrique qui englobe les nanoparticules et finalement  $\kappa$  est le facteur qui permet de tenir compte de la dépendance de la polarisabilité avec la géométrie de la surface (par exemple  $\kappa = 2$  pour une sphère). La polarisabilité devient maximale à la résonance pour  $\text{Re}(\epsilon_m) = -\kappa\epsilon_d$ .

#### 1.3.2.2.3. Modes de résonance

Les PSL peuvent être couplés directement avec une excitation électromagnétique extérieure. La résonance se manifeste par une bande d'absorption dans le spectre de transmission. Le pic d'absorption observé dépend fortement de la forme, de la taille et de la nature des particules ainsi que de l'environnement diélectrique local. En effet, pour des nanoparticules symétriques simples (par exemple de forme sphérique), il existe un seul mode propre de résonance. Celui-ci est possible à n'importe quel angle d'incidence. En revanche, pour certaines géométries comme les nano-bâtonnets, possédant deux axes de symétries, il existe deux modes propres de résonance. Suivant la polarisation de la lumière incidente et le sens des champs électriques par rapport aux directions des nanoparticules, on peut favoriser un mode par rapport à un autre (mode transverse, mode longitudinal).

La figure 1. 28 montre des mesures de pic d'absorption pour certaines nanostructures de différentes formes et dimensions confirmant que le positionnement du pic de la résonance peut être ajusté par le dimensionnement des structures, ce qui ouvre un grand champ d'applications à ces nanostructures tel que la bio-détection (Anker et al. 2008).

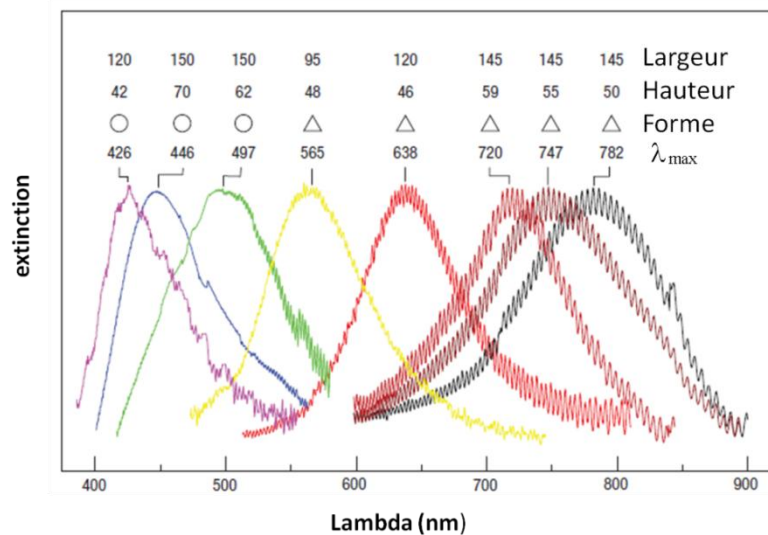


Figure 1. 28: Effet de la variation de la taille et de la forme sur le spectre d'extinction pour des structures sous forme de nano-prismes et de nano-disques réalisés par lithographie (Anker, Hall et al. 2008)

#### 1.3.2.2.4. Fort confinement du champ électrique

Les grandes avancées au niveau de la nano-fabrication, permettant de réaliser des structures de plus en plus complexes et exotiques, sont accompagnées par la compréhension des processus physique en cours ainsi que par l'émergence des outils quantitatifs de modélisation électromagnétique. Ces outils ont permis de mieux comprendre les propriétés optiques et plasmoniques des nanostructures isolées pour différentes tailles et différentes

formes ainsi que le couplage entre elles. L'étude des propriétés électromagnétiques de ces structures métalliques a été aussi le sujet d'intérêt de plusieurs travaux grâce à leur faculté à confiner et à amplifier le champ électrique (Kottmann et al. 2001). En effet, la réponse de l'oscillation des PSL induite par l'excitation d'un champ électrique externe  $E_0$  conduit à l'existence d'un champ électrique  $E_{\text{surface}}$  très intense sur la surface des nanoparticules par rapport au champ incident, suivant la relation (Jain et al. 2010):

$$E_{\text{surface}} = \frac{(1 + \kappa)(\epsilon_d)}{(\epsilon_m + \kappa\epsilon_d)} E_0 \quad (\text{I.23})$$

La résonance est réalisée dans le cas où  $\text{Re}(\epsilon_m) = -\kappa\epsilon_d$ . Afin d'explorer le comportement du champ électrique à la résonance, une étude a été réalisée (Hao et al. 2004) en se basant sur une simulation s'appuyant sur une approche électrodynamique (théorie de Mie). Ces calculs, qui se basent sur la résolution des équations de Maxwell, montrent l'augmentation du champ électrique sur les contours (extrémités) des structures en argent pour différentes formes (Figure 1. 29). Le facteur d'amplification du champ électrique par rapport au champ incident est de l'ordre de 3500 pour des triangles, 4500 pour les bâtonnets et 4700 pour une structure sphéroïdique. « Les points chauds » où le champ électrique est confiné dépendent de la polarisation (le sens du champ électrique).

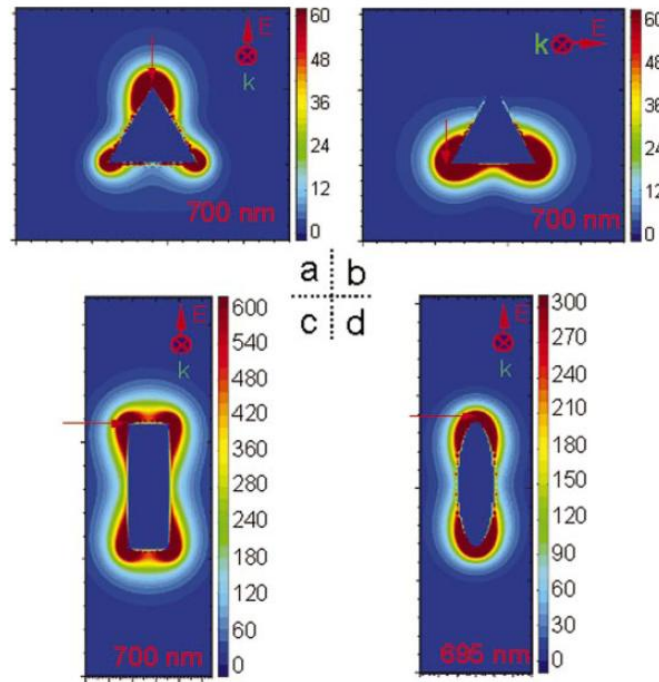


Figure 1. 29: Amplification du champ électrique pour des nanostructures de différentes formes. (a) et (b) présentent l'amplification du champ électrique pour un nano-triangle (longueur de l'arrête 60 nm et épaisseur 12 nm) dans le cas de deux polarisation différentes. (c) et (d) montrent l'amplification du champ électrique respectivement pour un nano bâtonnet et une structure sphéroïdique. La flèche en rouge désigne le point qui correspond au maximum d'amplification (Hao and Schatz 2004).

Comme deuxième étape, l'idée de rapprocher deux nano-triangles, (Figure 1. 30), pour profiter de l'interaction entre eux et afin d'amplifier davantage le champ électrique a aussi été étudiée. La simulation du champ électrique montre que le maximum se produit dans la surface

séparant les structures. Le facteur d'amplification du champ électrique est de l'ordre 3700 pour une longueur d'onde d'excitation 932 nm et de l'ordre de 16 pour une longueur d'onde d'excitation de 550 nm.

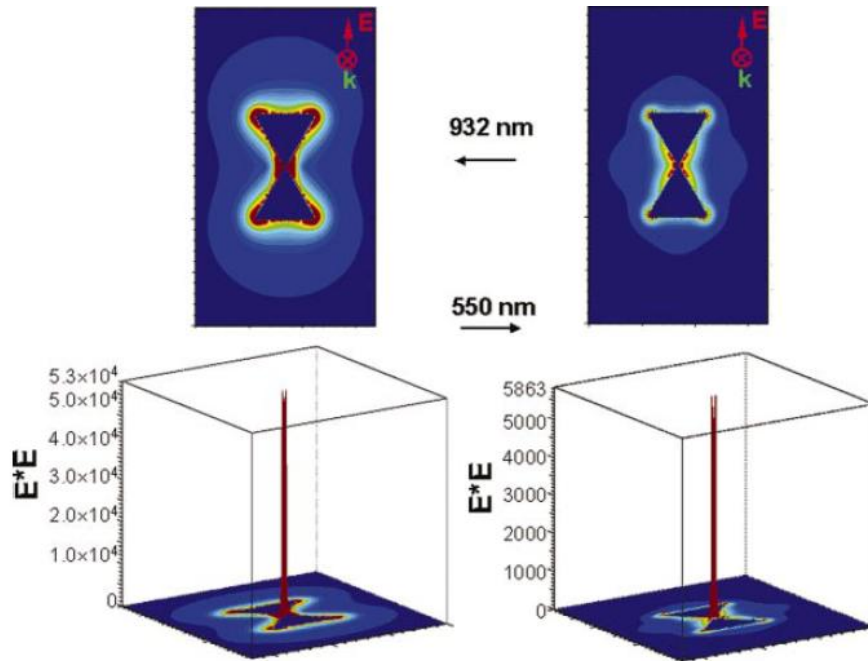


Figure 1. 30: Amplification du champ électrique pour deux triangles séparés de 2 nm pour deux longueurs d'ondes différentes à gauche 932 nm et à droite 550 nm (Hao and Schatz 2004).

Afin de mieux comprendre l'effet de l'interaction de plusieurs structures sur le comportement du champ électrique, Galarreta et al. (2010) ont étudié l'amplification du champ électrique d'un réseau hexagonal d'or due à l'interaction entre des nano-triangles (la longueur des arêtes est de 100 nm) positionnés sur du verre (Figure 1. 31). La détermination des "Points chauds" pour un réseau hexagonal de nano-triangles est estimée à partir de la distribution du champ électrique.

La figure (1 .32) montre qu'à partir des calculs réalisés par la méthode FDTD (Finite difference time domain), le champ électrique total  $|E_{\text{Total}}|^2$  et les composantes  $|E_{\parallel}|^2, |E_z|^2$  du champ électrique se comportent différemment lorsque la structure est éclairée avec une polarisation d'entrée  $P_y$  ou  $P_x$ , respectivement parallèle aux axes Y ou X. La longueur d'onde sélectionnée pour l'excitation est 704 nm pour la polarisation  $P_y$  et 603 nm pour la polarisation  $P_x$ . Dans les deux cas, la plus haute intensité du champ électrique est localisée au niveau des sommets des triangles. Toutefois, pour ces deux polarisations « les points chauds » ne sont pas présents à la même position, ce qui prouve que la distribution du champ électrique dépend fortement de la longueur d'onde d'excitation et de la direction de polarisation du faisceau entrant par rapport à l'échantillon. L'augmentation du champ électrique est confinée dans des régions spécifiques confirmant ainsi une interaction collective entre les triangles.

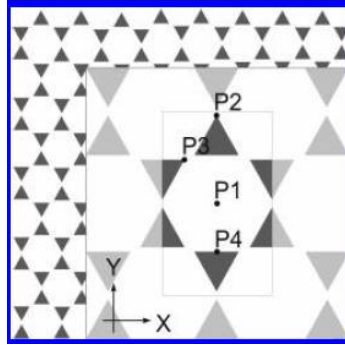


Figure 1.31: Représentation schématisée d'un réseau hexagonal périodique d'or composé de nano-triangles. La structure élémentaire du réseau a été mise en évidence (Galarreta, Norton et al. 2010).

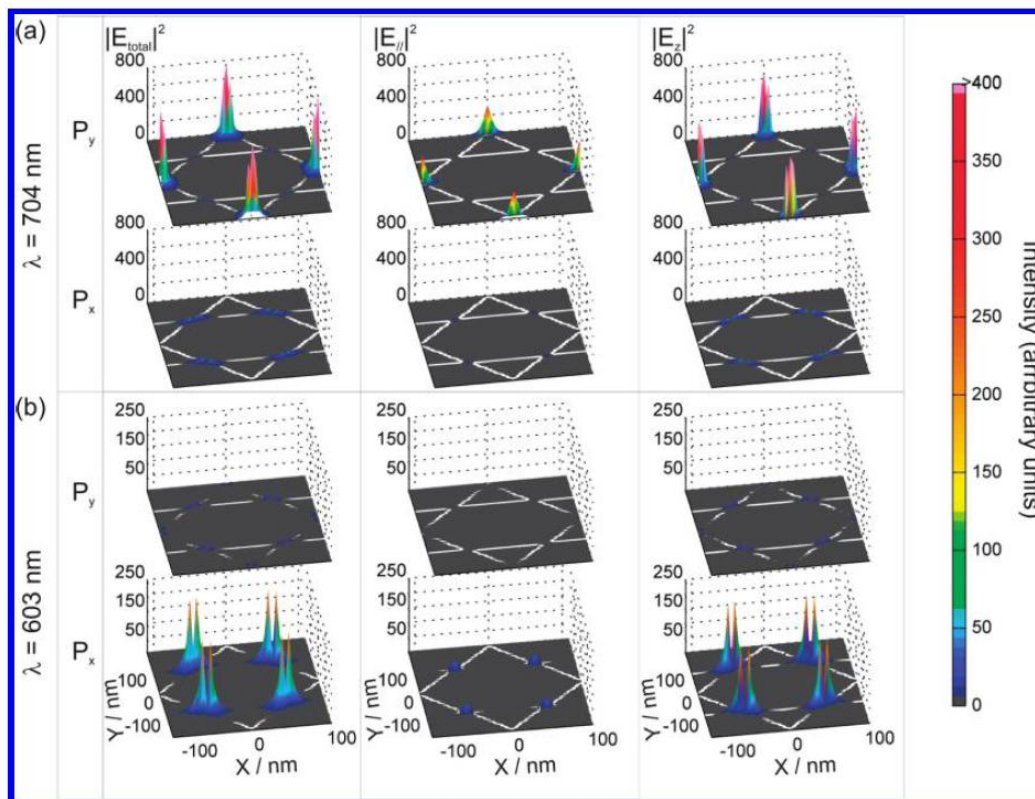


Figure 1.32: Distributions du champ électrique ainsi que les composantes ( $|E_{\parallel}|^2$ ,  $|E_{\perp}|^2$ ) d'un réseau hexagonal périodique pour deux longueurs d'ondes différentes (704 nm et 603 nm) et suivant deux polarisations différentes  $P_y$  et  $P_x$  (Galarreta, Norton et al. 2010).

### 1.3.3. Application des plasmons de surface localisés pour la bio-détection

Les travaux de (Ebbesen et al. 1998) (Kelf et al. 2006) (Yu et al. 2006) étaient le point de déclenchement pour découvrir le phénomène de transmission extraordinaire de la lumière. Il a été observé pour la première fois à travers un réseau carré de trous. Les résultats prouvaient que la lumière transmise par ce réseau était plus importante que la transmission d'un trou unique. Les propriétés inédites des PSL ont été ensuite exploitées pour la bio-détection. La figure 1.33 montre un exemple de dispositif (Haes et al. 2004) permettant l'étude des réactions biomoléculaires (sur une surface transparente) en se basant sur la transmission (ou

l'extinction) des nanostructures. Ce dispositif permet le passage d'une lumière polychromatique à travers la cellule intégrant l'échantillon structuré. La lumière est ensuite transmise et envoyée vers un spectromètre permettant d'afficher le spectre d'extinction pour détecter la longueur d'onde correspondante à la résonance de plasmons de surface localisés (RPSL). L'injection des biomolécules à travers le système fluide permet l'accrochage des biomolécules sur les surfaces des structures où les interactions sondes-cibles se déroulent, tout en engendrant un décalage dans le spectre d'extinction. Ce décalage en longueur d'onde de résonance permet ainsi de quantifier l'interaction biomoléculaire se déroulant à la surface des structures. Haes et van Duyne (Haes and Van Duyne 2004) ont comparé la technique basée sur la RPS et celle basée sur RPSL utilisée pour la bio-détection. Ils ont montré que chaque technique utilisée individuellement présente des inconvénients et des avantages en concluant que leurs performances globales sont équivalentes.

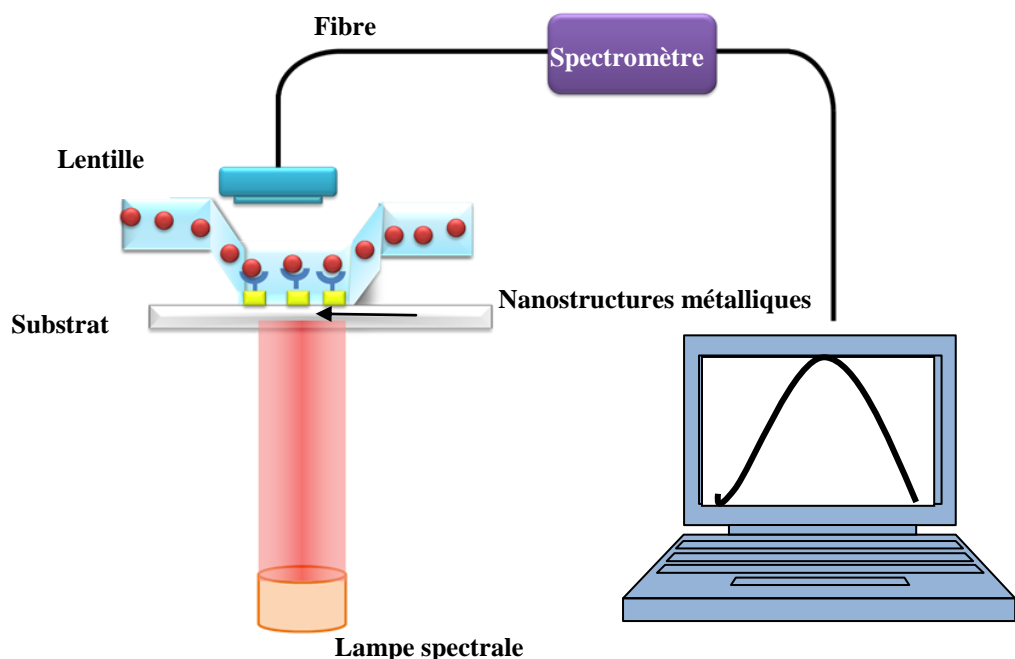


Figure 1. 33: Schéma du principe d'un biocapteur basé sur la résonance de plasmons de surface localisés.

Pour améliorer le potentiel de détection de ces systèmes à transmission, différentes formes de structures sièges des PSL ont été testées (Figure 1. 34), allant des structures simples (comme les trous, les triangles et les cubes) vers les structures les plus compliquées (comme les bâtonnets, les étoiles, les anneaux ...). Ces travaux ont inspiré plusieurs groupes de recherche pour investiguer le potentiel de ces structures en conservant la lecture du signal optique en réflectivité tout en se basant sur la configuration de Kretschmann. Ceci est détaillé dans la section suivante.

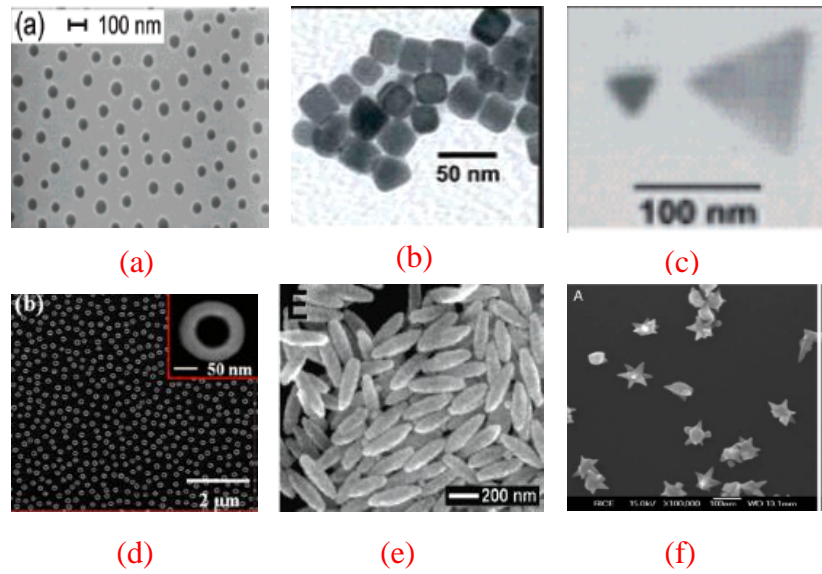


Figure 1. 34: Exemple des principaux travaux exploitant le phénomène de PSL pour des applications de bio-détection en utilisant des structures avec différentes formes : (a) des trous (Rindzevicius et al. 2005), (b) des cubes (Sherry et al. 2005), (c) des triangles (Sherry et al. 2006), (d) des anneaux (Huang et al. 2012), (e) des sphères (Wang et al. 2006), (f) des étoiles (Nehl et al. 2006).



#### 1.3.4. Structuration de la surface des biopuces

L'une des pistes prometteuses proposées pour améliorer la sensibilité de la biopuce repose sur l'excitation des plasmons de surface se propageant sur une surface métallique à travers la configuration Kretschmann. Ces structures, intégrées sur la surface et qui supportent les PSL sont utilisées dans le but de combiner les avantages des deux modes plasmoniques et profiter éventuellement du couplage entre eux.

L'amélioration de la réponse de la puce en terme de sensibilité reste un domaine de recherche actif en perpétuel développement. En effet, la forme des structures, la périodicité et l'épaisseur du film métallique sont quelques aspects physiques permettant de moduler les propriétés plasmoniques de la surface structurée.

Nous donnons, dans le tableau 1, un aperçu sur les travaux récents, énumérés par ordre chronologique, qui étudient la réponse d'une puce structurée comparée à la réponse de la surface métallique conventionnelle. Le gain obtenu en sensibilité conduit à prouver le rôle important de la structuration de la surface grâce aux phénomènes plasmoniques engendrés par l'arrangement périodique des structures sur la surface métallique tel que le phénomène de band-gap et le couplage entre PP-PSL.

##### 1.3.4.1. Phénomène de « band-gap »

La première méthode se base sur l'utilisation des structures avec un arrangement permettant de générer une bande interdite de plasmons de surface « band-gap », où les plasmons de surface ne peuvent pas se propager pour des valeurs données de l'angle et de la longueur d'onde (Barnes et al. 2003). Le phénomène de la bande interdite de plasmons de surface est bien établi et est largement utilisé dans la littérature pour contrôler la propagation des plasmons de surface le long d'une surface métallique. L'exploitation d'un biocapteur RPS en mode d'interrogation angulaire à proximité du bord de la bande interdite (Benahmed et al. 2007) provoque une haute sensibilité aux variations de l'indice de réfraction, six fois plus grande que celle d'une surface d'or conventionnelle (Alleyne et al. 2007). Malgré l'originalité de cette idée et l'importance du gain en sensibilité obtenu, les courbes de réflectivité associées à ces structures sont très larges, rendant très compliquée la détection du minimum de réflectivité et limitant ainsi son intérêt pour des applications biologiques (Alleyne, Kirk et al. 2007).

##### 1.3.4.2. Phénomène du couplage entre RPS et RPSL

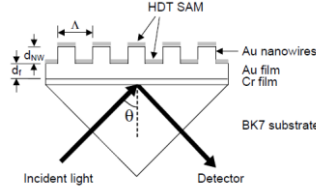
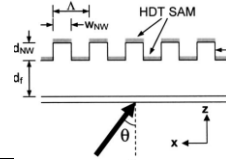
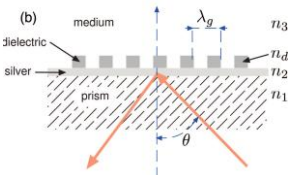
La deuxième méthode est fondée sur l'exploitation des films plasmoniques nanostructurés favorisant la coexistence de différents modes plasmoniques propagatifs et localisés. Profiter de l'hybridation entre ces deux phénomènes en structurant la surface à l'échelle nanométrique ouvre la possibilité d'améliorer la sensibilité des biocapteurs. Néanmoins peu d'études se focalisent sur la structuration à l'échelle micrométrique.

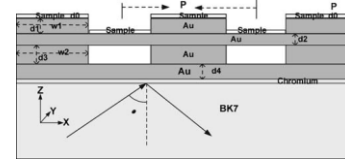
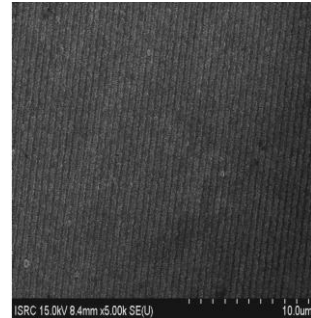
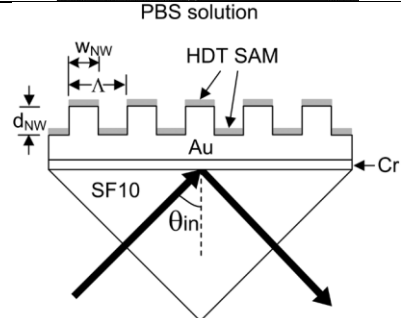
Le tableau 1 présente aussi des études numériques et expérimentales portant sur le développement de matériaux hybrides basés sur le couplage entre les deux phénomènes PP et PSL pour la bio-détection. Nous pouvons constater que le couplage entre les deux phénomènes offre une opportunité pour augmenter la sensibilité et la spécificité de la

détection des petites molécules (protéine, bactérie...) pour différentes applications biologiques. En effet, ceci est possible par l'adaptation des aspects physiques des matériaux. La majorité de ces études se focalisent sur **la méthode de l'interrogation angulaire** en étudiant la réponse des biopuces possédant des structures à l'échelle nanométrique. Le tableau montre aussi que la manipulation des propriétés chimiques des interfaces des biocapteurs, en localisant les sondes biologiques dans les endroits permettant de générer les « points chauds » permet d'améliorer davantage la sensibilité tout en renforçant l'intérêt de la nanostructuration.

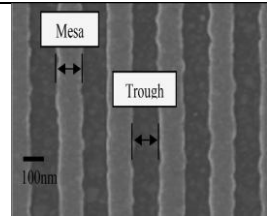
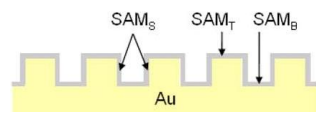
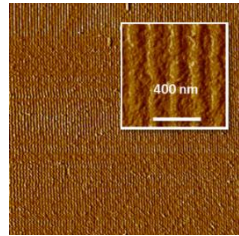
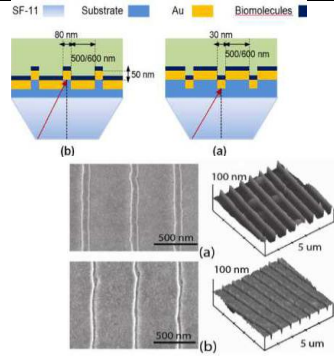


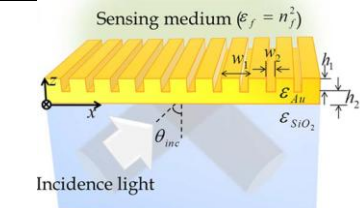
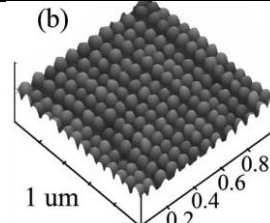
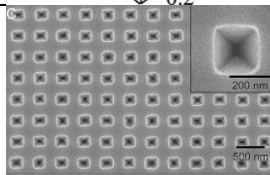
Tableau 1: Exemples des principaux travaux exploitant le couplage entre les deux phénomènes plasmoniques : PP et PSL pour amplifier la bio-détection. La première colonne désigne le type de l'étude ainsi que le modèle numérique utilisé comme la méthode des éléments finis FEM ou la méthode modale de Fourier FMM, ou bien la méthode différentielle FDTD. La deuxième colonne présente la longueur d'onde d'excitation. La troisième colonne présente la méthode de la bio-détection et le type de structuration. La quatrième colonne souligne le phénomène engendré par la structuration et exploité pour amplifier la bio-détection. La valeur de cette amplification se trouve dans la sixième colonne. La cinquième colonne expose une image de la biopuce structurée prise de la référence se trouvant dans la septième colonne.

Type d'étude	Longueurs d'onde (nm)	Structures + Méthodes d'interrogations	Dimensions des structures étudiées	Phénomènes	Image	Le gain en sensibilité	Ref
<b>Structuration 2D</b>							
Étude numérique (FMM) + FDTD	632.8	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	Film métallique en or ( $h = 40$ nm) + Un réseau métallique en or $\Delta h = (10$ nm / 15 nm / 20 nm / nm 25 nm) $f =$ de 0 à 1 par pas de 0.1 $\Lambda = 50$ nm / 100 nm / 150 nm / nm 200 nm)	Couplage PSL + PP		23	(Kim et al. 2006)
Étude numérique (FMM) + FDTD	633	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	Film métallique en or ( $h = 40$ nm) + Un réseau métallique en or $\Delta h = 20$ nm $f$ varie de 0 à 1 par un pas de 0.1 $\Lambda$ varie de 50 nm à 250 nm par pas de 10 nm	Couplage PSL + PP		28	(Kim 2006)
Étude numérique	633	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	Film métallique en argent ( $h = 39$ nm) + des structures rectangulaire en argent ( $n = 1.5$ , $\Delta h = 200$ nm) $f = 0.5$ $\Lambda = 280$ nm	Bande interdite		~	(Benahmed and Ho 2007)

Étude numérique (FMM)	633	Réseau: les structures sous forme de <b>H</b> + Interrogation en réflectivité	Un empilement de couches : Un film métallique en or ( $h = 23 \text{ nm}$ ) + des structures rectangulaires en or ( $\Delta h = 10 \text{ nm}$ ) + Un autre film métallique ( $h = 10 \text{ nm}$ ) + des structures rectangulaires en or ( $\Delta h = 15 \text{ nm}$ ) $\Lambda$ varie de 50 nm à 450 nm par un pas de 25 nm $f$ varie de 0.1 à 1 par un pas de 0.1	Couplage PSL + PP		30	(Zhang et al. 2007)
Étude expérimentale	632.8	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>Film métallique en or (<math>h = 40 \text{ nm}</math>) + des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 60 \text{ nm}</math>, <math>\Lambda = 500 \text{ nm}</math>, <math>f = 0.5</math>)</li> <li>Film métallique en or (<math>h = 40 \text{ nm}</math>) + des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 15 \text{ nm}</math>, <math>\Lambda = 200 \text{ nm}</math>, <math>f = 2.25</math>)</li> </ul>	Couplage PSL + PP		1.44	(Byun et al. 2007)
Étude numérique (FMM)	633	Réseau rectangulaire + Interrogation en réflectivité	Film métallique en or ( $h = 40 \text{ nm}$ ) + des structures rectangulaires en or ( $\Delta h = 20 \text{ nm}$ ) $\Lambda = 50 \text{ nm} / 100 \text{ nm} / 200 \text{ nm}$	Couplage PSL + PP		3.44	(Byun et al. 2008)

## Chapitre 1 : Introduction aux biopuces à lecture plasmonique

Étude expérimentale	810	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	Film métallique en or ( $h = 25$ nm) + Un réseau métallique en or $\Delta h = 15$ nm $f = 0.5$ $\Lambda = 250$	Bande interdite+ Localisation des sondes		8	(Hoa et al. 2008)
Étude numérique (FMM)	633	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	Film métallique en or ( $h = 40$ nm) + Un réseau métallique en or $\Delta h =$ de 5 nm à 35 nm par un pas de 5 nm $f = 0.1 / 0.9$ $\Lambda = 50$ nm / 100 nm	Couplage PSL + PP & localisation de la couche biologique		4.2	(Byun et al. 2009)
Etude expérimentale	632.8	Réseau rectangulaire + Interrogation angulaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>Film métallique en or (<math>h = 55</math> nm) + des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 60</math> nm, <math>\Lambda = 300</math> nm)</li> <li>Film métallique en or (<math>h = 40</math> nm) + des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 15</math> nm, <math>\Lambda = 200</math> nm)</li> </ul>	Couplage PSL + PP		2.4	(Kyujung et al. 2009)
Étude numérique (FMM) + Étude expérimentale	800	Double Réseau rectangulaire + Interrogation en réflectivité	<ul style="list-style-type: none"> <li>Des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 50</math> nm, <math>\Lambda = 500</math> nm)</li> <li>Des structures rectangulaires en or (<math>\Delta h = 50</math> nm, <math>\Lambda = 600</math> nm)</li> </ul>	Couplage PSL + PP		4	(Malic et al. 2009)
Étude numérique	700 -1800	Réseau rectangulaire +	Tous les paramètres du réseau sont	Couplage PSL + PP		2.6	(Roh et al.

(FMM) + Algorithme génétique		Interrogation spectrale	variables.				(2010)
<b>Structuration 3D</b>							
Étude numérique (FMM) + Étude expérimentale	800	Réseau de piliers + Interrogation spectrale	Largeur des piliers varie de 30 nm à 100 nm et l'espacement entre eux de 30 nm à 170 nm	Couplage PSL + PP		5	(Malic et al. 2007)
Étude expérimentale	413-1239	Réseau pyramidale + Interrogation spectrale	Largeur du pyramide 200 nm $\Lambda = 500$ nm	Couplage PSL + PP		~	(Gao et al. 2008)

## **1.4. Projet de recherche**

### **1.4.1. Contexte**

Le développement actuel des biocapteurs est principalement poussé par un besoin urgent pour le diagnostic précoce des maladies. En effet, la détection précise des bio-marqueurs à la fois spécifiques et indicatifs pour chaque maladie permet de diagnostiquer celle-ci dans son état le plus précoce, avant même l'apparition des symptômes. D'où la nécessité d'un biocapteur sensible, compact, rapide et à faible coût permettant l'analyse biologique en temps réel. Dans ce contexte, les systèmes de biocapteurs basés sur la RPS, malgré leurs grandes contributions dans le domaine de génomique et de protéomique, n'ont pas la sensibilité requise pour la détection des molécules à faible masse molaire. Ils demeurent aujourd'hui incapables de détecter des molécules à l'état de traces. Nous pensons que les structures périodiques, intégrées à la surface d'une puce, présentent un grand potentiel pour l'amélioration de la performance des biocapteurs. Ces biocapteurs à RPS peuvent ainsi répondre aux exigences de bio-analyse biomoléculaires, avec encore de nombreux défis à surmonter.

**Cette étude a donc pour perspective d'étudier le potentiel de détection d'une nouvelle génération des biopuces structurées à lecture plasmonique.**

### **1.4.2. Hypothèses**

**En complémentarité avec plusieurs groupes se penchant sur l'amélioration de l'aspect technologique des biocapteurs basés sur la RPS, l'approche utilisée dans ce travail est basée sur la structuration du film métallique de la puce comme une alternative pour l'amélioration de la sensibilité de la RPS.**

En effet, la présence d'un réseau nano-micro-structuré dans un film mince favorise l'excitation des différents modes plasmoniques : mode propagatif et mode localisé. La coexistence de ces deux modes peut offrir une occasion unique pour créer des modes hybrides servant pour l'amélioration de la réponse des biopuces.

Auparavant, les phénomènes de PP et PSL ont été amplement étudiés de manière indépendante et utilisés pour la bio-détection de manières différentes. Ceci explique que la transition entre ces deux modes demande plus d'attention.

**L'étude de la transition entre le mode plasmonique localisé et le mode propagatif ainsi que la caractérisation des propriétés plasmoniques des différents modes hybrides résultant de l'interaction entre les modes plasmoniques peuvent mener, non seulement à contrôler et manipuler la réponse des matériaux plasmoniques permettant de profiter de leurs nouvelles propriétés physiques pour améliorer la bio-détection, mais aussi à mieux comprendre la transition entre PSL et PP.**

Au-delà de la simple adsorption d'une couche biologique uniforme sur la surface de la puce et en intégrant des biomolécules de manière sélective dans certaines zones spécifiques de

la surface structurée, particulièrement là où le champ électrique est confiné, **nous visons à démontrer que seul un petit nombre de biomolécules immobilisées au niveau de ces zones sensibles apporte une contribution significative à l'augmentation de la sensibilité des biocapteurs structurés**. Ceci pourra être, dans le futur, la clé vers la détection des molécules à l'état de traces.

#### 1.4.3. Bref descriptif de notre stratégie de travail

Afin de démontrer ces hypothèses nous avons adopté, tout d'abord, un modèle numérique efficace et rapide, basé sur l'hybridation entre la méthode modale de Fourier et la méthode des éléments finis, que nous détaillerons dans le deuxième chapitre et permettant de prédire l'effet de la structuration de la surface de la puce. Comme première étape, trois objectifs spécifiques sont visés en se basant sur cette approche numérique. Tout d'abord, nous étudions le potentiel de la surface structurée d'une puce basée sur la configuration de Kretschmann. Grâce à une simulation exhaustive, nous cartographions et quantifions la réponse en terme de sensibilité de la surface structurée suite à la détection des biomolécules en la comparant avec la réponse d'une biopuce conventionnelle. Deuxièmement, la variation des dimensions de la structuration, en balayant une gamme du domaine nanométrique au domaine micrométrique, nous permet d'explorer le potentiel des structures ainsi que l'étude de l'impact de la transition (du nanomètre au micromètre) sur les phénomènes plasmoniques. Finalement, grâce à l'efficacité et la rapidité de ce code numérique, nous ajustons les dimensions de la surface métallique structurée pour optimiser la réponse de la biopuce.

La deuxième étape consiste en l'élaboration de puces structurées par lithographie à faisceau d'électrons focalisé et ensuite en la caractérisation à l'aide de l'imagerie de résonance de plasmons de surface afin de valider notre étude paramétrique et mieux quantifier expérimentalement leurs potentiels de bio-détection. Les résultats préliminaires de ces premières puces seront abordés plus en détails dans la deuxième partie du troisième chapitre.

La troisième étape consiste à calculer l'amélioration de la sensibilité d'une surface structurée couplée avec la localisation des biomolécules dans les zones précises où le champ électrique est intense. Le rôle important de la localisation sélective des biomolécules sera démontré dans le quatrième chapitre.

Nous pensons que d'autres études plus approfondies demeurent nécessaires avant que les biocapteurs plasmoniques puissent atteindre leur plein potentiel en tant qu'outil indispensable et capable de satisfaire les besoins biomédicaux modernes.

## Chapitre 2 : Outils numériques et dispositifs expérimentaux

*Le développement des outils quantitatifs de modélisation électromagnétique est primordial pour prédire la réponse d'une biopuce à lecture plasmonique soit conventionnelle, basée sur une surface plane, soit structurée intégrant des motifs sur sa surface. Dans une première étape, nous avons développé un modèle analytique, basé sur la méthode de Rouard, permettant de simuler la réflectivité d'une biopuce conventionnelle non seulement pour optimiser sa réponse mais aussi pour la comparer avec la réponse d'une biopuce structurée. Une deuxième étape consiste à l'appropriation d'un modèle numérique efficace et rapide, permettant la résolution des équations de Maxwell en se basant sur l'hybridation entre deux méthodes classiques : la méthode des éléments finis et la méthode modale de Fourier. L'accent sera mis non seulement sur les différentes contraintes de calcul, notamment la finesse du maillage qui traduit la précision du calcul, mais aussi sur le compromis avec le temps de calcul. L'intérêt principal des différentes méthodes d'accélération, développées et détaillées, dans cette partie est de permettre et faciliter l'exploration du potentiel de ces structures via une étude paramétrique exhaustive. Par complémentarité avec l'aspect numérique, la dernière partie de ce chapitre est dédiée à la description des différents montages qui sont à notre disposition et que nous avons utilisés. En particulier, nous détaillerons le dispositif d'imagerie à résonance de plasmon de surface qui est un outil performant offrant la possibilité de caractériser non seulement une biopuce conventionnelle, mais aussi une biopuce avec simultanément plusieurs zones structurées intégrées sur sa surface, dans le but de cartographier leurs nappes de réflectivité angulo-spectrale et leurs réponses en terme de sensibilité.*

## Introduction

Le premier chapitre a permis d'introduire les plasmons de surface et leurs propriétés exceptionnelles ouvrant la possibilité pour ce phénomène d'être exploité pour la bio-détection des interactions biomoléculaires. L'étude de la résonance de plasmons de surface, même expérimentale, nécessite des outils quantitatifs de modélisation électromagnétique capable de prédire la réponse des biopuces. Nous avons développé dans ce cadre un modèle analytique, basé sur la méthode de Rouard, permettant de simuler la réflectivité d'une biopuce conventionnelle, intégrant une surface plane en or siège du phénomène plasmonique et d'optimiser sa réponse. Néanmoins le système basé sur une puce conventionnelle est limité en terme de sensibilité. La micro-nano-structuration de la surface métallique de la puce est l'une des pistes qui offre la possibilité d'améliorer la sensibilité des biopuces à lecture plasmonique. Une compréhension plus poussée des phénomènes plasmoniques engendrés par la structuration nécessite aussi l'utilisation des outils numériques et expérimentaux appropriés, que nous présenterons tout au long de ce deuxième chapitre. Nous avons adopté un modèle numérique efficace et rapide, basé sur la méthode hybride, permettant d'étudier l'impact de la présence des structures complexes sur la surface de la puce pour prévoir les propriétés optiques de ces surfaces structurées, en déduire la réponse en terme de sensibilité et dimensionner ainsi les paramètres optimaux de la puce offrant le maximum de sensibilité. Nous aborderons ensuite le détail du système expérimental d'imagerie angulo-spectrale qui permet la caractérisation des structures prédites par les simulations numériques afin d'étudier leurs propriétés optiques et de quantifier expérimentalement leurs potentiels pour la bio-détection.

### 2.1. Méthode de calcul et outils de simulation

La modélisation de la réflectivité d'un système, composé de multicouches, est un moyen indispensable pour l'étude du phénomène plasmonique. C'est la raison pour laquelle nous avons développé, en premier temps, un code analytique performant basé sur la méthode de Rouard étendue (Lecaruyer et al. 2006). Néanmoins, ce modèle se limite à des surfaces planes. Il est incapable de prédire la réflectivité d'une surface structurée. Pour s'affranchir de cette limitation, nous avons donc utilisé dans un deuxième temps un outil numérique, basé sur la méthode hybride qui est plus approprié à ce genre de problématique.

#### 2.1.1. Modèle analytique : méthode de Rouard

Dans le cadre de notre étude, une biopuce à RPS est un empilement de multicouches de matériaux diélectriques et métalliques (Lecaruyer, Maillart et al. 2006). La simulation offre la possibilité de prédire la réponse de la biopuce en tenant compte des différents paramètres externes notamment les longueurs d'onde d'excitation et les angles d'incidence. De plus l'outil numérique permet d'étudier l'influence des différents paramètres de construction de la puce, plus particulièrement la nature des multicouches et l'épaisseur associée à chaque couche, sur sa réponse. Ceci permet l'optimisation de la réponse d'une biopuce conventionnelle. La prédiction des résultats expérimentaux facilite énormément la mise en



œuvre expérimentale de la technique de caractérisation et de détection ainsi que le bon déroulement de l'expérience.

Nous allons présenter dans la section suivante le modèle théorique sur lequel se base la méthode de Rouard. Cette section s'organise en trois parties : dans la première partie, nous rappelons les lois de la réflexion que nous avons implémentées dans un modèle analytique pour modéliser le cas simple d'une structure composée de trois milieux et nous le généraliserons après pour plusieurs couches « p » ; la deuxième partie est dédiée à la présentation de la procédure de la simulation d'une biopuce réellement utilisée par la méthode de Rouard, la dernière partie est consacrée à la présentation de quelques résultats obtenus en confirmant ainsi l'utilité de cet outil analytique.

### 2.1.1.1. Méthode de Rouard pour trois couches

La méthode de Rouard (Rouard 1956) est largement utilisée dans le cas d'un empilement de couche des matériaux non absorbants . Elle a été ensuite généralisée (Lecaruyer, Maillart et al. 2006) pour les couches absorbantes : tel est le cas des couches métalliques. Cette méthode, fondée sur les lois de la réflexion, est limitée à des structures multicouches planes (uniformes).

Supposons, en première approximation, qu'une couche mince puisse être considérée comme un milieu continu, homogène, isotrope et limité par deux faces planes et parallèles. Considérons aussi un empilement de milieux contenant une couche métallique d'indice de réfraction complexe  $n_2$  et d'épaisseur finie  $e_m$  intercalée entre un premier milieu diélectrique en dessous, d'indice de réfraction  $n_1$  et d'épaisseur semi-infinie et un deuxième milieu diélectrique en dessus d'indice de réfraction  $n_3$  également d'épaisseur semi-infinie. Dans le cas d'une biopuce basée sur la configuration de Kretschmann, le premier milieu diélectrique correspond au prisme et le deuxième diélectrique est le milieu couvrant.

En arrivant à l'interface entre le premier diélectrique et le métal suivant un angle  $\theta_1$  avec la normale, le rayon lumineux incident se divise en un rayon réfléchi et un autre transmis. Celui-ci se divise lui-même en un rayon réfléchi et un autre transmis en arrivant cette fois ci sur l'interface séparant le métal et le deuxième diélectrique. Ce processus se répète à chaque fois que le rayon lumineux rencontre une interface comme le montre la figure 2. 1. En sommant les multiples rayons réfléchis, nous obtenons le faisceau lumineux issu de cet empilement.

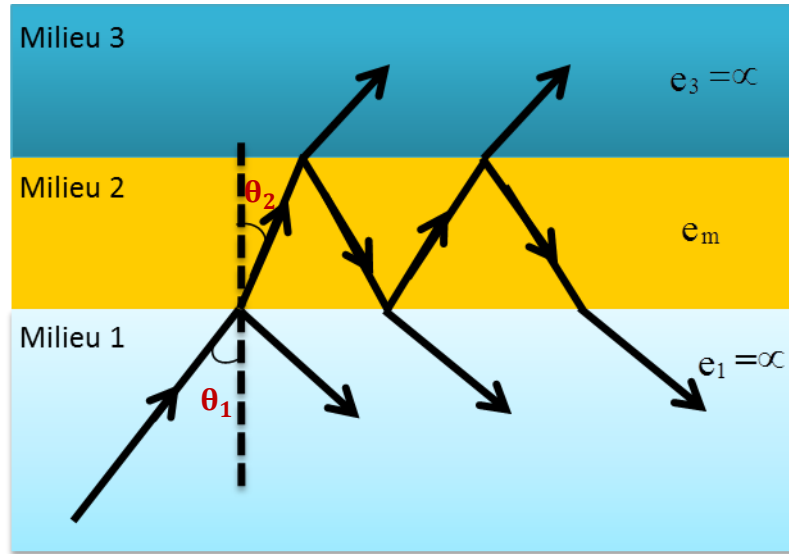


Figure 2. 1 : Illustration d'une structure formée de 3 milieux étudiés par la méthode de Rouard : Une couche métallique d'épaisseur  $e_m$  entre deux milieux diélectriques semi-infinis.

En se basant sur la continuité des composantes tangentielles du champ électrique à l'interface entre deux couches et sachant que la réflexion et la transmission dépendent de la polarisation de lumière, nous obtenons pour chacun des modes TE et TM un coefficient de Fresnel en réflexion et un coefficient de Fresnel en transmission. Les coefficients de Fresnel sont donnés par les expressions suivantes pour la première interface :

➤ **Polarisation (TE)**

$$r_{1-2} = \frac{n_1 \cos \theta_1 - n_2 \cos \theta_2}{n_1 \cos \theta_1 + n_2 \cos \theta_2} \quad (\text{II.1})$$

$$t_{1-2} = \frac{2n_1 \cos \theta_1}{n_1 \cos \theta_1 + n_2 \cos \theta_2} \quad (\text{II.2})$$

➤ **Polarisation (TM)**

$$r_{1-2} = \frac{n_1 \cos \theta_2 - n_2 \cos \theta_1}{n_1 \cos \theta_2 + n_2 \cos \theta_1} \quad (\text{II.3})$$

$$t_{1-2} = \frac{2n_1 \cos \theta_1}{n_1 \cos \theta_2 + n_2 \cos \theta_1} \quad (\text{II.4})$$

En s'appuyant sur la loi de Snell-Descartes :  $n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$  et à partir de l'angle  $\theta_1$  nous déterminons l'angle de réfraction à la deuxième interface :

$$\theta_2 = \arcsin \left( \frac{n_1}{n_2} \sin \theta_1 \right)$$

Puisque le deuxième milieu est absorbant, son indice de réfraction s'écrit sous forme complexe  $a_{n2} + jb_{n2}$  où  $a_{n2}$  et  $b_{n2}$  sont des nombre réels. Nous pouvons déduire donc la forme complexe de l'angle  $\theta_2$  :

$$\theta_2 = \arcsin \left( \frac{n_1 \sin \theta_1}{a_{n2} + jb_{n2}} \right) \quad (\text{II.5})$$

Après avoir calculé les coefficients de réflexion et de transmission, nous pouvons déterminer la réflexion totale d'une couche en additionnant les multiples réflexions et transmissions tout en tenant compte de la contribution de la deuxième interface :

$$r_2 = r_{1-2} + t_{1-2} e^{-j\varphi_2} r_{2-3} e^{-j\varphi_2} t_{2-1} + t_{1-2} e^{-j\varphi_2} r_{2-3} r_{2-1} e^{-j\varphi_2} r_{2-3} e^{-j\varphi_2} t_{2-1} + \dots \quad (\text{II.6})$$

où  $\varphi_2$  est le déphasage introduit par un aller-retour dans le deuxième milieu (dans notre cas le milieu métallique). Son expression est donnée par  $\varphi_2 = \frac{4\pi}{\lambda} n_2 e_m \cos \theta_2$ .

La somme de cette série conduit à :

$$r_2 = r_{1-2} + \frac{t_{1-2} r_{2-3} t_{2-1} e^{-2j\varphi_2}}{1 - r_{2-1} r_{2-3} e^{-2j\varphi_2}} \quad (\text{II.7})$$

Afin de simplifier cette expression, nous utilisons la relation suivante :

$$t_{1-2} t_{2-1} = t_{1-2}^2 = 1 - r_{1-2}^2 \quad (\text{II.8})$$

Nous obtenons alors la relation finale :

$$r_2 = \frac{r_{1-2} + r_{2-3} e^{-2j\varphi_2}}{1 + r_{1-2} r_{2-3} e^{-2j\varphi_2}} \quad (\text{II.9})$$

Nous en déduisons finalement le pouvoir de réflexion défini par  $R = r_2 r_2^*$

La simulation de la réponse d'une biopuce à 3 milieux, était une première étape pour valider notre code.

### 2.1.1.2. Généralisation de la méthode de Rouard pour p couches

La méthode de Rouard se généralise facilement pour un empilement de p couches. Pour cela, nous commençons le calcul récursif à partir de la dernière interface en prenant en considération les réflexions multiples entre deux interfaces. Nous pouvons donc déduire le coefficient de réflexion entre la couche p-2 et la couche p, tout en tenant compte de la couche p-1 intermédiaire.

$$r_{p-2,p} = \frac{r_{p-2,p-1} + r_{p-1,p}e^{-2j\varphi_{p-1}}}{1 + r_{p-2,p-1}r_{p-1,p}e^{-2j\varphi_{p-1}}} \quad (\text{II.10})$$

où  $\varphi_p = \frac{4\pi}{\lambda} n_p e_p \cos\theta_p$  est le déphasage dû au passage du rayon dans le milieu p. Nous obtenons par une formule de récurrence sur les interfaces, l'expression suivante du facteur de réflexion de l'ensemble de l'empilement

$$r_{0,p} = \frac{r_{0,1} + r_{1,p}e^{-2j\varphi_1}}{1 + r_{0,1}r_{1,p}e^{-2j\varphi_1}} \quad (\text{II.11})$$

### 2.1.1.3. Simulation d'une biopuce conventionnelle par la méthode de Rouard

Pour la bonne compréhension du phénomène de plasmons de surface, nous avons présenté précédemment la méthode de Rouard pour une structure à trois milieux composée d'une couche métallique entre deux milieux diélectriques semi-infinis. Néanmoins, pour s'approcher des contraintes expérimentales des biopuces réelles et exploiter ainsi le phénomène pour des applications biologiques, il est nécessaire d'étudier une structure à cinq couches correspondant à une puce réellement utilisée dans les expériences (Lecaruyer et al. 2007) tel que présenté dans la figure 2. 2. En effet, une couche de chrome ou de titane est généralement utilisée pour faciliter l'adhésion du métal avec le verre. La couche biologique constitue la deuxième couche supplémentaire par rapport à une structure à trois couches.

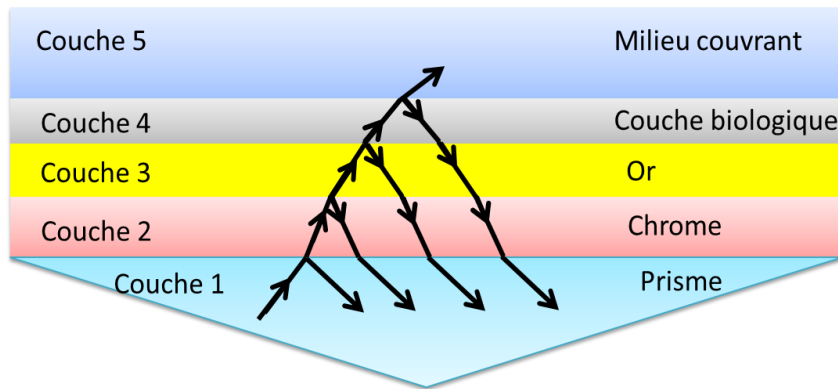


Figure 2. 2 : Structure à 5 couches qui constituent une biopuce basée sur la configuration de Kretschmann.

Le choix de l'indice de réfraction des différentes couches, plus précisément celui de la couche métallique, est important pour réaliser des simulations en accord avec l'expérience. Pour la couche métallique, l'indice de réfraction correspondant varie en fonction des

longueurs d'onde d'excitation. Nous pouvons utiliser le modèle de Drude pour décrire en première approximation la dispersion des plasmons de surface en considérant ses électrons de conduction comme étant libres. Néanmoins ce modèle ne tient pas compte de la contribution des électrons de la bande de valence. Le comportement des métaux nobles est donc plus compliqué. Afin de s'approcher au plus près des résultats expérimentaux, il existe dans la littérature, plusieurs sources parmi lesquelles, on peut trouver les indices de l'or provenant de résultats expérimentaux tels que ceux de Johnson et Christy (Johnson et al. 1972) ou du Palik (E.D.). Mais nous avons opté pour une approximation polynomiale du modèle empirique de Corn pour l'or permettant d'avoir des résultats comparables entre la simulation et la caractérisation de nos échantillons (Nakkach 2012). Pour les différents types de substrats (SF10, BK7), nous utilisons aussi une approximation polynomiale pour les données fournies par la base de données SOPRA. (<http://refractiveindex.info/>). L'indice de réfraction de l'eau varie faiblement dans le visible : il est modélisé suivant une équation qui tient compte de la température au cours de l'expérience (Schiebener et al. 1990). Ceci permet éventuellement d'estimer les variations de réflectivité dues aux fluctuations de la température (Chamtouri 2009). Dans nos calculs l'adsorption des brins d'ADN, formant une couche biologique, est modélisée par un milieu homogène avec un indice de réfraction de 1.48 (Elhadj et al. 2004) et une épaisseur de 1 nm.

### 2.1.1.4. Description du code développé

Pour atteindre notre objectif, nous avons développé un code de calcul avec le logiciel Igor 6.0 capable de calculer la réflectivité en mode TE et TM d'une structure à cinq couches quelconque prédéfinie par l'utilisateur. Nous pouvons aussi simuler la variation de réflectivité engendrée par le dépôt d'une couche biologique sur cette structure. Nous avons développé une interface graphique qui correspond à la structure cinq couches, étant donné que c'est la structure réellement utilisée dans le cadre de mon travail. Les matériaux composant les couches sont introduits en précisant simplement leurs noms associés et l'épaisseur de chaque couche sur le tableau de bord (Figure 2. 3). Cette interface permet une résolution interactive du problème.

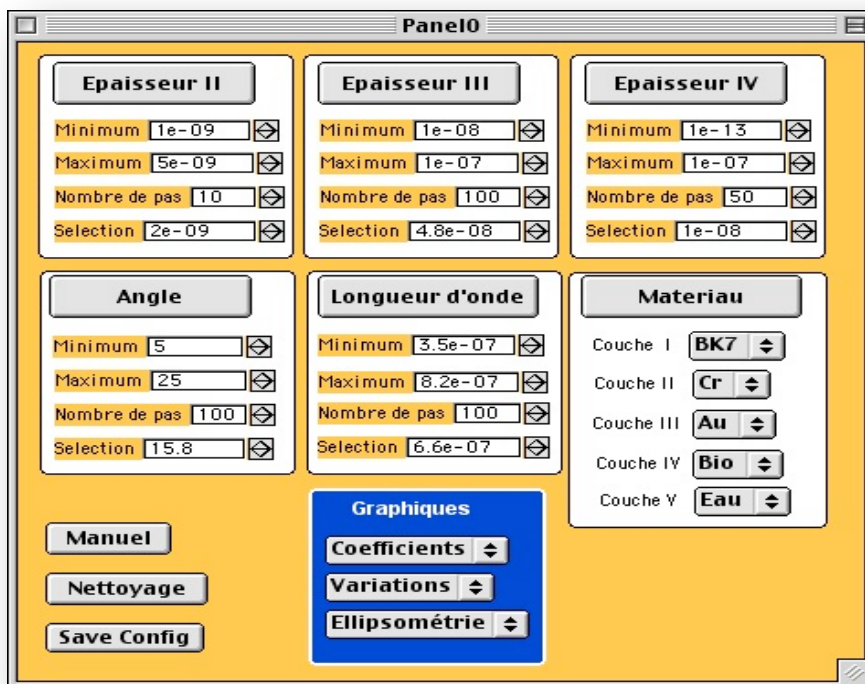


Figure 2. 3 : Interface graphique du code développé sous environnement Igor pour simuler le modèle de Kretschmann à cinq couches

#### 2.1.1.5. Réponse d'une biopuce par la méthode de Rouard

Ce code permet l'étude de la réponse d'une puce assimilable à une structure à cinq couches et de cartographier sa nappe de réflectivité en fonction des différents angles et différentes longueurs d'onde. Nous présentons dans la figure 2. 4 les nappes de réflectivité qui correspondent à deux puces basées sur la configuration de Kretschmann. Chacune de ces structures est composée d'un prisme, d'une couche métallique d'épaisseur 56.7 nm et d'une couche de chrome de 2 nm intercalée entre les deux. Nous avons choisi, pour la première structure, un prisme en SF10 ( $n_p = 1.709$ ) tandis que pour la deuxième structure, le prisme est en BK7 ( $n_p = 1.509$ ) tout en effectuant la simulation entre 500 nm et 900 nm ce qui correspond aux longueurs d'onde typiquement utilisées sur les bancs expérimentaux. La plage angulaire de la résonance de plasmons de surface dépend fortement de l'indice de réfraction du prisme, ce dont il faut tenir compte lors de la conception des bancs expérimentaux.

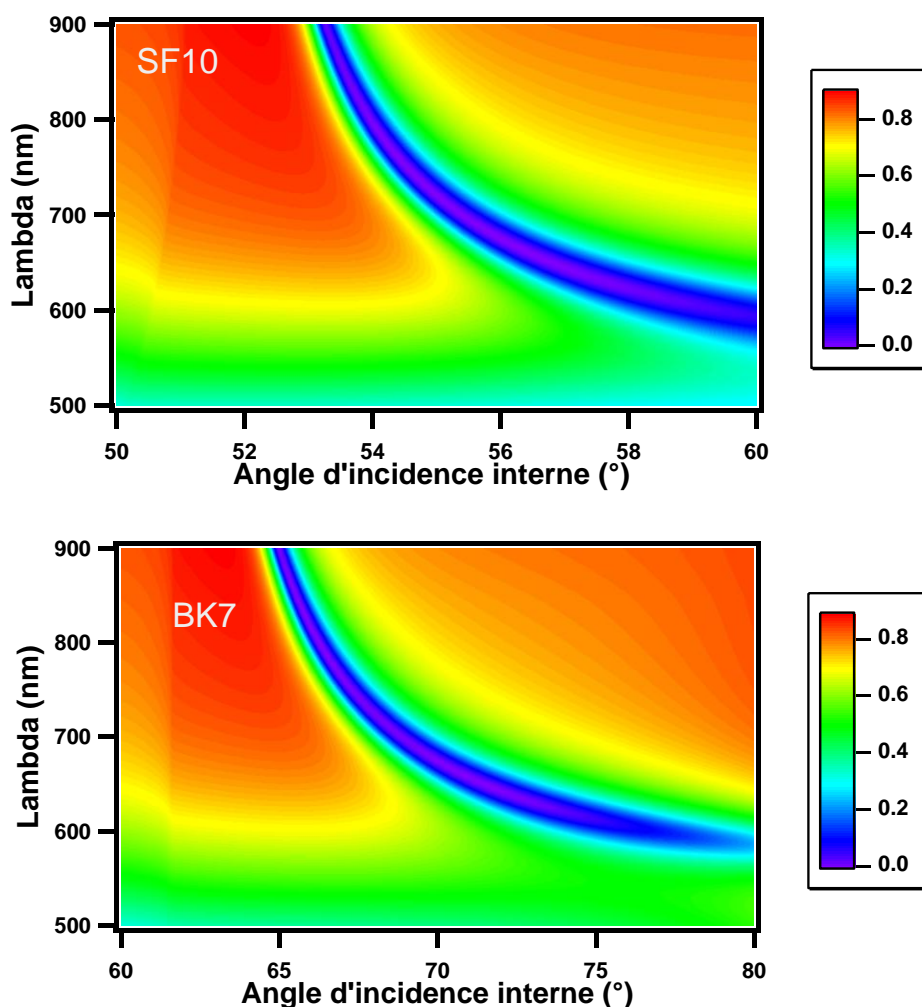


Figure 2. 4 : Deux nappes de réflectivité angulo-spectrale : celle en haut correspond à la structure basée sur un prisme SF10 / 56.7 nm d'or / 2 nm de chrome et eau. Celle d'en bas correspond à la même structure mais juste en changeant le type de prisme par un BK7.

Rappelons que nous pouvons effectuer une coupe horizontale pour tracer la courbe de réflectivité en fonction des angles d'incidence si nous opérons à une longueur d'onde fixe. Nous présentons dans la figure 2. 5 des calculs de réflectivité à différentes longueurs d'onde (600 nm, 700 nm, 850 nm) en fonction des angles d'incidence correspondant à la première puce proposée (SF10). Il est intéressant de noter que la longueur d'onde d'excitation influe sur la forme de la chute de réflectivité et sur la valeur du minimum de réflectivité. Pour une faible longueur d'onde (600 nm) la chute de réflectivité est plus large et possède une grande largeur à mi-hauteur. Ceci rend plus difficile la détection exacte du minimum. Pour une grande longueur d'onde (850 nm), la chute de réflectivité est plus étroite avec une faible valeur de largeur à mi-hauteur. Du point de vue de la détection, la chute de réflectivité doit être caractérisée par des largeurs à mi-hauteur les plus étroites possibles et des valeurs de minimum de réflectivité les plus basses.

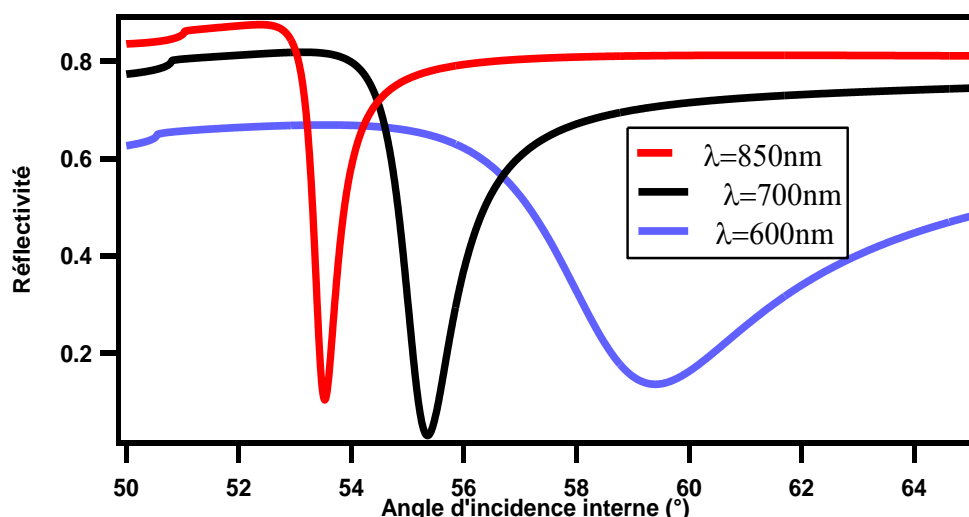


Figure 2. 5 : Réflectivité en fonction de l'angle d'incidence pour différentes longueurs d'onde pour une configuration basée sur un prisme SF10 / 56.7 nm d'or / 2 nm de chrome / 1 nm d'une couche biologique ( $n = 1.48$ ) / eau.

À partir de la différence entre la nappe angulo-spectrale d'une structure nue (sans couche biologique) et celle d'une structure avec une couche biologique, nous sommes capable de calculer la variation de réflectivité  $\Delta R(\%)$  engendrée par le dépôt de cette couche biologique (Figure 2. 6) et de donner la sensibilité de la puce à l'accrochage d'une couche biologique nanométrique.

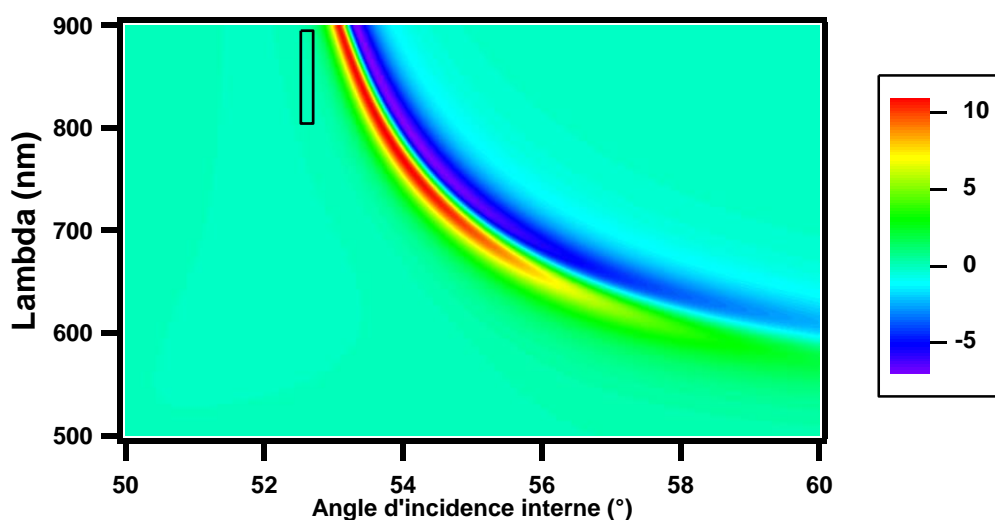


Figure 2. 6 : Différence de réflectivité  $\Delta R(\%)$  due au dépôt d'une couche biologique d'épaisseur 1nm et d'indice de réfraction de 1.48.

En faisant des coupes au niveau de la nappe de variation de réflectivité à des longueurs d'onde fixes (600 nm, 700 nm et 850 nm), nous observons (Figure 2. 7) que la variation de réflectivité augmente en fonction de la longueur d'onde d'excitation. De plus cette augmentation de variation de réflectivité est accompagnée par une diminution de la largeur de la courbe de réflectivité (Figure 2. 5). Ceci s'explique par la meilleure pénétration de l'onde plasmons de surface dans le milieu environnant. Nous avons choisi d'étudier dans le chapitre suivant l'effet de la structuration de la puce à une longueur d'onde 850 nm.



La sensibilité de la biopuce conventionnelle à une couche biologique servira par la suite comme référence avec laquelle nous allons comparer la réponse des biopuces intégrant des surfaces structurées.

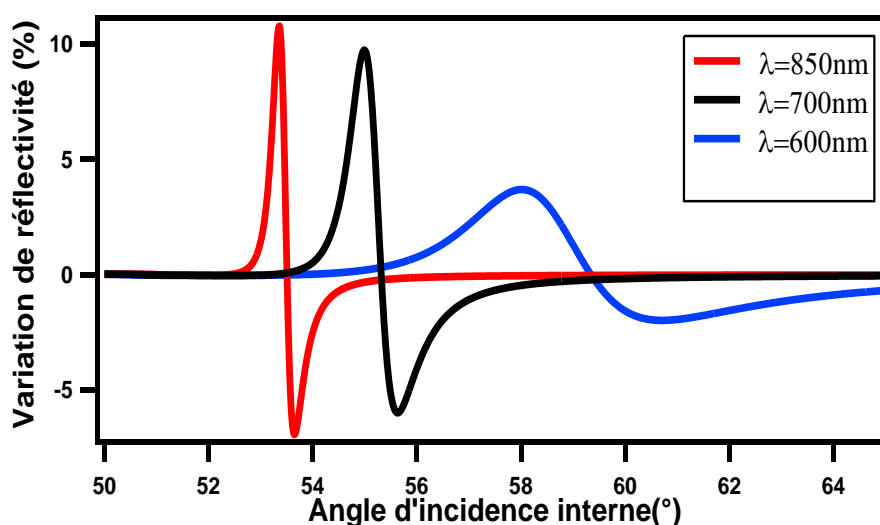


Figure 2. 7 : Variation de la réflectivité en fonction de l'angle d'incidence pour différentes longueurs d'onde pour une configuration basée sur un prisme SF10 / 56.7 nm d'or / 2 nm de chrome / 1 nm d'une couche biologique ( $n = 1.48$ ) / eau.

#### 2.1.1.6. Optimisation d'une biopuce multicouches

##### 2.1.1.6.1. Choix du métal

Nous avons déjà vu que les métaux sont utilisés dans les biopuces en raison de leurs propriétés optiques et plus particulièrement pour leur capacité à provoquer, dans la bande spectrale du visible, une résonance de plasmons facilement détectable. Théoriquement plusieurs métaux sont des candidats possibles, citons à titre d'exemple le sodium, l'indium, l'aluminium et le cuivre. Néanmoins, la plupart de ces métaux sont inutilisables du point de vue pratique. En effet, le sodium est un alcalin trop réactif, l'indium malgré sa bonne adhésion avec le verre reste un métal rare et trop coûteux, l'aluminium et le cuivre manifestent une chute de réflectivité trop large dans le visible (de Bruijn et al. 1992).

Dans la pratique, grâce à leur sensibilité chimique et leur importante stabilité, l'or et l'argent sont les deux métaux qui sont fréquemment utilisés par la majorité des groupes de recherche qui utilisent la RPS comme un instrument pour la bio-détection. Pour choisir le métal le plus approprié, nous présentons dans la Figure 2. 8 la variation de réflectivité pour l'or, l'argent et le cuivre à une longueur d'onde d'excitation 850 nm. La comparaison entre ces différents métaux montre que l'argent est sans doute le métal le plus sensible, l'or est moins sensible mais demeure utilisable, par contre, le cuivre ne semble pas approprié à cause de sa faible sensibilité.

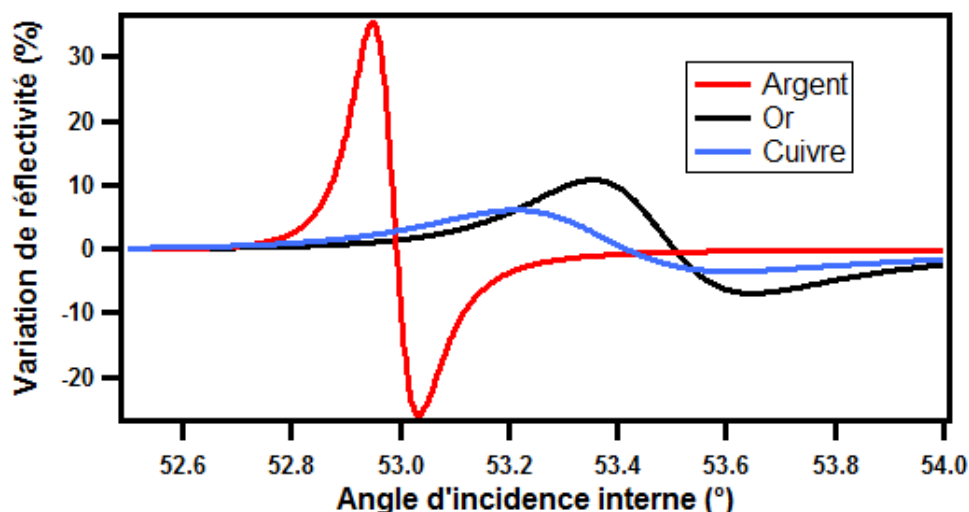


Figure 2. 8 : Variation de la réflectivité due au dépôt d'une couche biologique de 1 nm en fonction de l'angle d'incidence à une longueur d'onde de 850 nm pour une configuration basée sur un prisme SF10/ 56.7 nm d'un métal (Or ou argent ou cuivre) / 2 nm de chrome

Des calculs publiés par Lecaruyer (Lecaruyer, Canva et al. 2007) montrent l'influence de la partie réelle et de la partie imaginaire de l'indice de réfraction sur le profil de la courbe de réflectivité. Il apparaît que plus la partie réelle de l'indice de réfraction est petite et plus la courbe de chute de réflectivité est étroite et donc plus le métal est sensible aux changements externes. En revanche, plus la partie imaginaire est petite et plus le profil de cette courbe devient large. Il résulte de ces études qu'un métal parfait pour la bio-détection par SPR possède une faible partie réelle et une grande partie imaginaire.

Il est clair sur la figure 2.8 que l'argent est le métal le plus sensible. Cependant, nous devons choisir un métal biocompatible inerte qui ne s'oxyde pas et ne réagit pas en le mettant en contact avec les solutions contenant les produits biologiques. La possibilité d'utiliser deux couches métalliques Or (d'épaisseur 10 nm) et Argent (d'épaisseur 40 nm) a aussi été étudiée dans le but de profiter de la sensibilité de l'argent et la non oxydation de l'or (Zynio et al. 2002). Néanmoins, cette méthode rend plus délicate l'élaboration de la puce (évaporation de deux couches métalliques). Nous avons maintenant tous les arguments pour justifier le choix de l'or comme métal utilisé pour étudier les applications des plasmons de surface.

#### 2.1.1.6.2. *Choix de l'épaisseur optimale du métal*

Comme le montre l'expression du déphasage, l'épaisseur de la couche métallique joue un rôle important dans la RPS. Bien que l'on puisse exciter les plasmons de surface selon plusieurs configurations (différentes épaisseurs de métal), il existe seulement une épaisseur idéale pour chaque longueur d'onde incidente permettant d'optimiser le transfert d'énergie de l'onde incidente vers les plasmons de surface.

Pour bien mettre en évidence l'importance de ce paramètre critique, nous présentons dans la figure 2. 9 les nappes de réflectivité calculées par la méthode de Rouard pour une structure basée sur la configuration de Kretschmann constituée d'un prisme SF10 nm, 2 nm chrome et une couche métallique en or avec une épaisseur qui varie de 30 nm à 80 nm. Le calcul a été effectué à  $\lambda = 600$  nm pour la première nappe et à  $\lambda = 850$  nm pour la deuxième nappe. Il

montre que la résonance dépend de l'épaisseur et de l'angle d'incidence. Les nappes attestent, d'une part, cette dépendance et nous renseignent, d'autre part, sur la position de la chute de réflectivité située entre 40 nm et 60 nm, ce qui permet de conclure que la variation de l'épaisseur de la couche métallique permet la modification des conditions de couplage. Pour une trop faible épaisseur du métal (inférieure à 40 nm) il devient impossible d'exciter les plasmons. La valeur de la réflectivité augmente et tend vers la réflexion totale sur le prisme. Dans l'autre cas limite où la couche métallique est trop épaisse (supérieure à 60 nm) le couplage disparaît au-delà de 100 nm et le système peut être assimilable à un miroir (SF10+or).

Comme nous l'avons déjà expliqué, il existe, pour une longueur d'onde donnée, une épaisseur optimale et un angle d'incidence optimal réalisant le maximum de couplage entre l'onde incidente et les plasmons. Des coupes horizontales au niveau de ces nappes de réflectivité permettent d'accéder à l'épaisseur optimale pour chaque longueur d'onde.

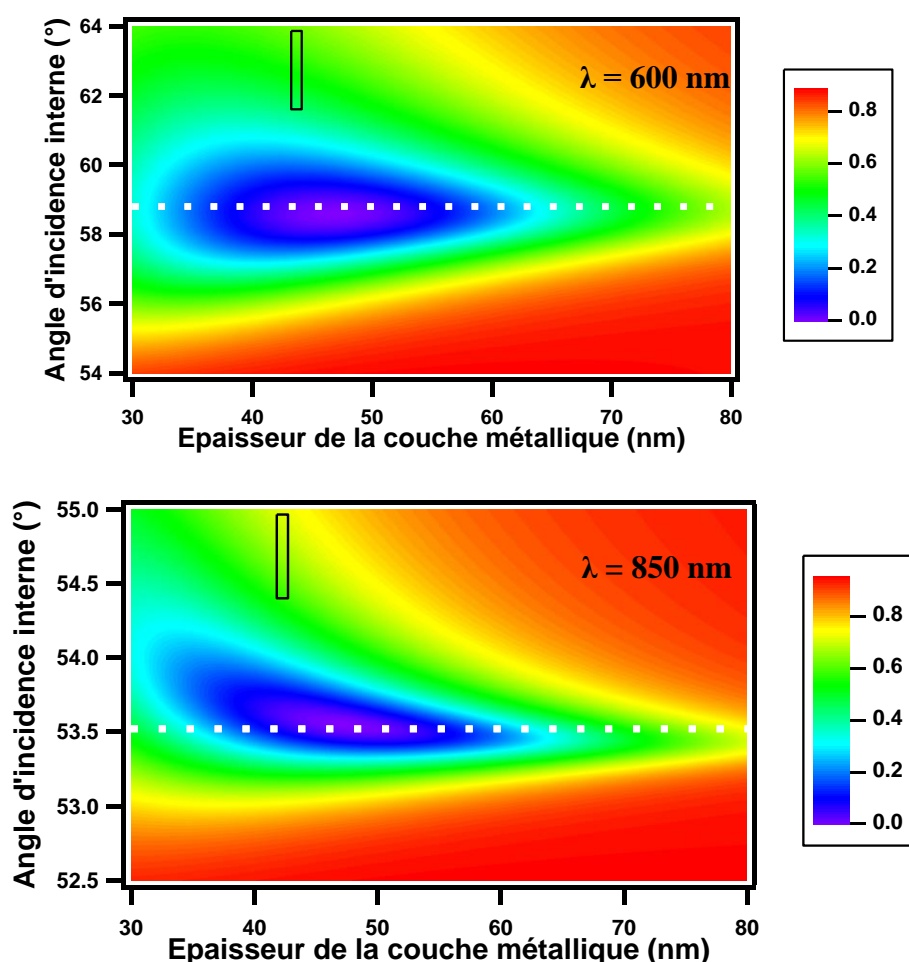


Figure 2. 9 : Nappes de réflectivité en fonction de l'angle d'incidence et de l'épaisseur de la couche métallique pour une configuration de Kretschmann constituée d'un prisme SF10 nm, 2 nm chrome et une couche métallique en or avec une épaisseur qui varie de 30nm à 80 nm. La nappe du haut est tracée à une longueur d'onde d'excitation de 600 nm et celle d'en bas à une longueur d'onde d'excitation de 850 nm.

Ces coupes permettent de visualiser la réflectivité pour différentes épaisseurs du métal pour un angle fixe. La Figure 2. 10 montre qu'à  $\lambda = 600$  nm l'épaisseur d'or optimale est 43.5

nm pour un angle de  $59.1^\circ$ . Pour  $\lambda = 850$  nm, l'épaisseur d'or optimale est 50 nm pour un angle de  $53.4^\circ$ .

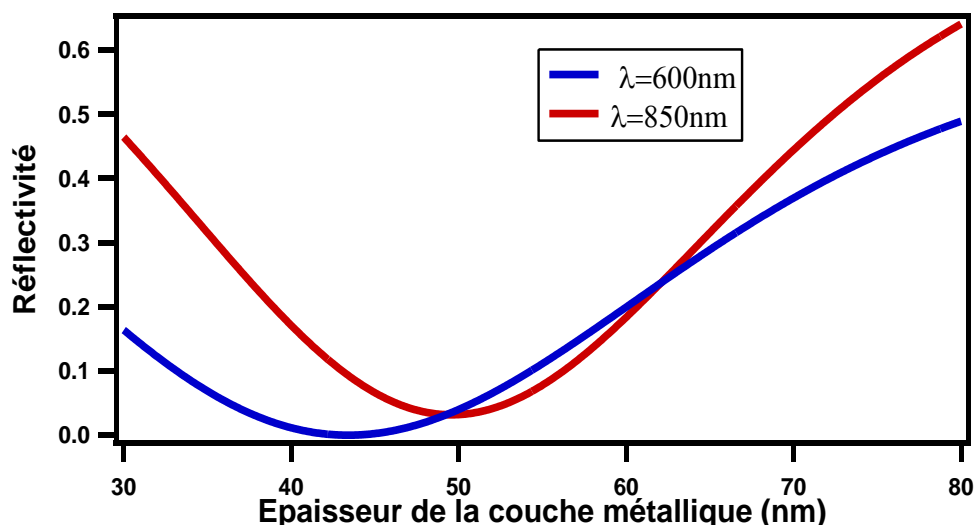


Figure 2. 10 : La courbe en bleu désigne la réflectivité en fonction de l'épaisseur pour un angle d'incidence à  $59,1^\circ$  et la longueur d'onde à 600 nm. La courbe en rouge présente la réflectivité en fonction de l'épaisseur pour un angle d'incidence à  $53.4^\circ$  et la longueur d'onde à 850 nm.

Dans le cadre de notre recherche des paramètres optimaux permettant d'optimiser la sensibilité, il est intéressant de savoir si l'épaisseur optimale de la couche métallique permettant de maximiser le couplage (entre l'onde incidente et l'oscillation des électrons de la surface métallique) est la même que celle permettant de réaliser un maximum de sensibilité. Pour répondre à cette question, nous calculons la variation de réflectivité engendrée par le dépôt de 1 nm d'une couche biologique d'indice 1.48 sur la structure précédemment étudiée et pour les mêmes longueurs d'ondes 600 nm et 850 nm, et ceci tout en gardant l'épaisseur de la couche métallique variable de 30 nm à 80 nm.

Les nappes de variation de réflectivité tracées en fonction des différents angles d'incidence et différentes épaisseurs du métal sont illustrées par la figure 2.11. Elles montrent les maxima de sensibilité atteints 4.02 % @ 600 nm et 10.87 % @ 850 nm. Ces maxima de sensibilité sont réalisables pour des épaisseurs comprises entre 50 nm et 60 nm.

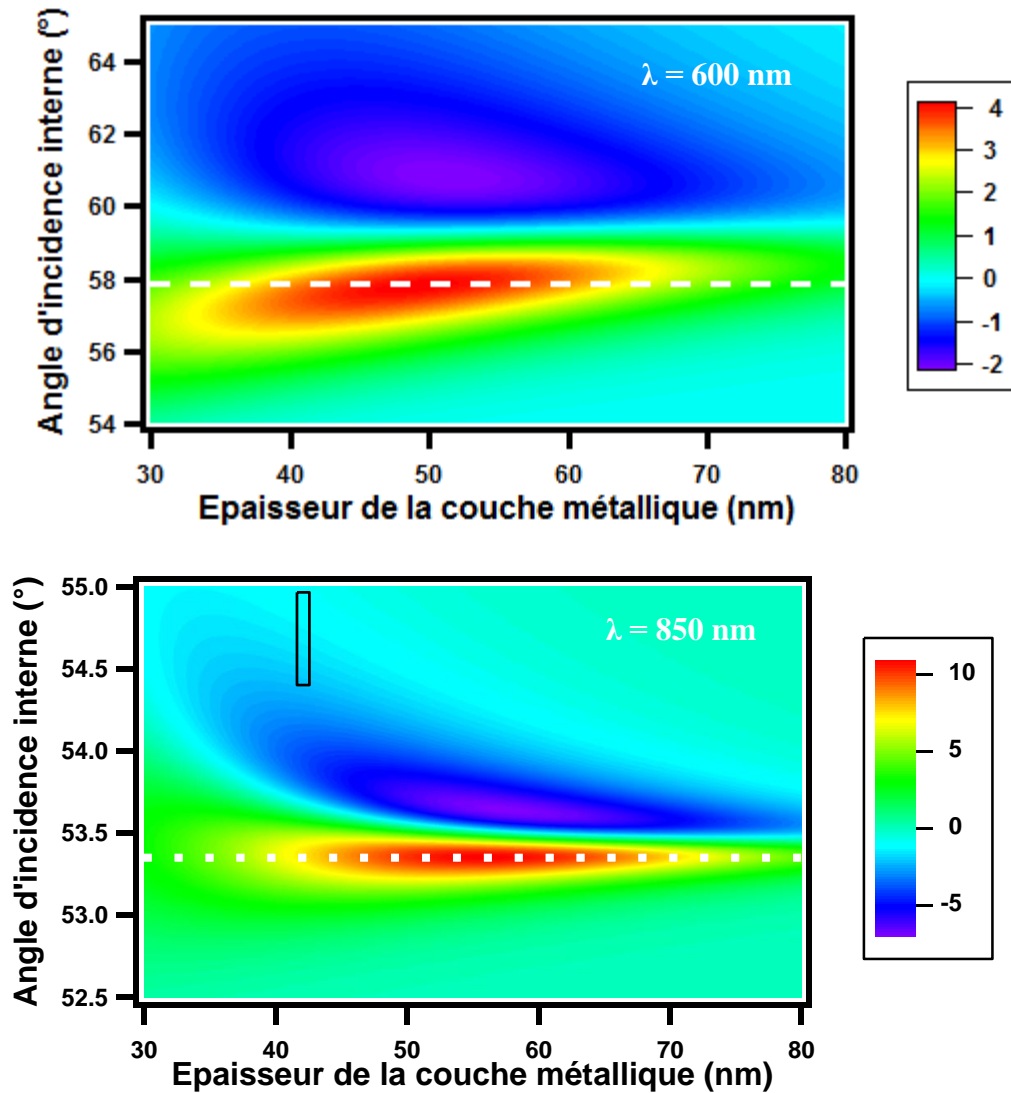


Figure 2. 11 : Nappes de variation de réflectivité dues au dépôt d'une couche biologique de 1 nm d'épaisseur et d'indice 1.48 sur une configuration constituée d'un prisme SF10 nm, 2nm chrome et une couche métallique en or avec une épaisseur qui varie de 30nm à 80 nm. La nappe du haut est tracée à une longueur d'onde d'excitation de 600 nm et celle d'en bas à une longueur d'onde d'excitation de 850 nm.

Pour connaître la valeur exacte de l'épaisseur permettant de réaliser le maximum de sensibilité, nous faisons des coupes horizontales à un angle d'incidence permettant ainsi d'accéder à l'épaisseur optimale pour chaque longueur d'onde.

La figure 2. 12 montre qu'à  $\lambda = 600 \text{ nm}$ , l'épaisseur d'or optimale est 50 nm. Par contre à  $\lambda = 850 \text{ nm}$  l'épaisseur d'or optimale est 56.7 nm.

Nous concluons, de la comparaison avec la valeur de l'épaisseur du métal permettant un maximum de couplage, que la valeur de l'épaisseur permettant une meilleure réponse de la biopuce en terme de sensibilité est un peu plus grande.

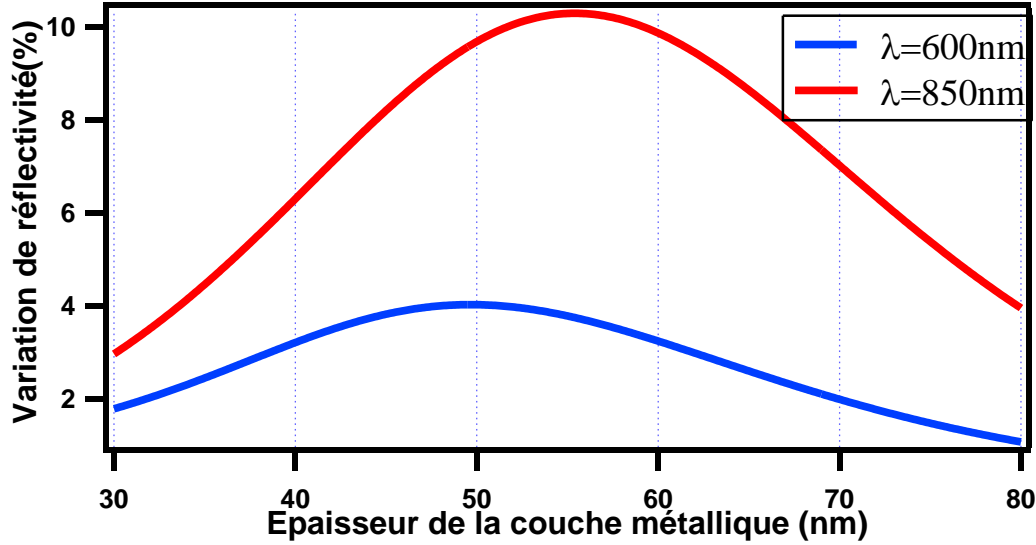


Figure 2. 12: La courbe en bleu désigne la variation de la réflectivité en fonction de l'épaisseur à 600 nm et pour un angle  $58^\circ$ . Celle en rouge présente la variation de la réflectivité en fonction de l'épaisseur pour une longueur d'onde de 850 nm et pour un angle  $53.4^\circ$ .

Nous avons présenté l'intérêt de la simulation de la RPS pour un expérimentateur permettant de cibler les paramètres donnant les configurations optimales. Malheureusement le modèle de Rouard connaît quelques limitations. Il ne peut pas prédire la réflectivité d'une surface structurée que ce soit avec des motifs simples ou complexes. Pour étudier la réponse d'une biopuce structurée, assimilable à un réseau périodique, nous avons donc recours à d'autres outils numériques plus appropriés à ce genre de problématique et que nous détaillerons dans la section suivante.

### 2.1.2. Modèle numérique : Méthode Hybride

Selon la loi des réseaux, une onde plane incidente sur un réseau périodique donne naissance à des ondes planes réfléchies et d'autres transmises (Figure 2. 13). La composante du vecteur d'onde de l'onde diffractée  $k'_x$  parallèle au réseau est liée à celle de l'onde incidente  $k_x$  par la relation :  $k'_x = k_x + pK$  où  $K$  est le vecteur d'onde du réseau donné par  $K = \frac{2\pi}{\Lambda}$  avec  $p$  un nombre entier et  $\Lambda$  étant la période du réseau. Il est nécessaire de connaître la fraction d'énergie dans les différents ordres de diffraction. Dans ce cadre, diverses méthodes numériques ont été proposées pour résoudre ce problème comme la méthode des éléments finis « Finite Elements Method » **FEM** et la Méthode Modale de Fourier « Fourier Modal Method » **FMM** qui reste la méthode la plus populaire pour l'étude de la diffraction par des réseaux. Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients et nous pouvons les considérer comme deux méthodes complémentaires. L'association de ces deux méthodes dénommée la méthode hybride **HYB** (Besbes, Hugonin et al. 2007) est utilisée dans le cadre de ce travail. L'originalité de ce code provient de l'hybridation de la FEM avec la FMM en utilisant l'approche de la matrice  $S$  de diffraction. La méthode hybride est développée dans le cadre des travaux de recherche du groupe Nanophotonique de l'Institut d'Optique. Le code est développé sous environnement Matlab et constitue une « Toolbox » sous le nom de « SimPhotonics ». C'est un outil efficace qui permet la modélisation des composants

photoniques et plasmoniques nanostructurés. Il est bien adapté aux structures à géométries complexes et aux matériaux avec pertes. Dans la pratique, cet outil est utilisé pour calculer la réflectivité angulaire en mode TM et puis ensuite normalisée au mode TE. La différence entre la courbe de réflectivité normalisée avant le dépôt d'une couche biologique sur la surface structurée et celle après le dépôt de la couche biologique permet finalement de remonter à la sensibilité de détection pour la comparer avec la performance d'une biopuce conventionnelle. Ce code offre la possibilité d'effectuer une étude exhaustive en variant les dimensions de la structuration dont l'objectif est de chercher les configurations optimales.

Nous avons adapté ce code à notre problématique en contribuant au développement d'une interface Matlab pour faciliter l'utilisation de ce programme et automatiser le calcul pour notre étude paramétrique.

La version actuelle du programme permet d'appliquer deux méthodes différentes. En effet, en fonction des problèmes, nous pouvons utiliser soit HYB (avec les conditions aux limites adéquates) soit la FEM. Les deux méthodes ont la même approche générale, ils divisent le problème en 3 grandes étapes : premièrement le champ électrique et le champ magnétique en dehors de la zone structurée (modulée) sont exprimés sous forme d'un développement de Rayleigh avec des amplitudes inconnues, la deuxième étape consiste à résoudre les équations de Maxwell au niveau de la structure et enfin dans une troisième étape, les conditions aux limites des différentes régions sont utilisées pour déterminer les coefficients de réflexions et de transmissions recherchés. La seule différence est la manière avec laquelle les équations de Maxwell sont résolues. Nous détaillerons dans les sections suivantes la procédure pour la résolution d'un problème électromagnétique avec la FMM puis avec la FEM dans le cas d'un réseau 1D tout en précisant leurs avantages et leurs inconvénients dans le cas de l'utilisation séparée de chaque méthode. Nous présenterons ensuite la procédure d'hybridation de ces deux méthodes en soulignant l'avantage de cette méthode hybride dans le cadre de notre problématique tout en détaillant les enjeux de la modélisation d'une biopuce numérique intégrant une surface structurée et les considérations de calcul. Nous expliquerons aussi les astuces numériques utilisées pour accélérer le calcul permettant d'offrir la possibilité de faire une étude paramétrique rapide en variant les différents paramètres caractérisant la structure étudiée.

### 2.1.2.1. Méthode modale de Fourier

En 1995, Moharam et al (Moharam et al. 1995) formulent la FMM généralement connue sous le nom, de RCWA (Rigorous Coupled-Wave-Analysis), pour des réseaux diélectriques. Cette méthode est devenue une méthode largement utilisée pour calculer l'efficacité de la diffraction des réseaux.

La FMM consiste, tout d'abord, à considérer le champ électrique à l'extérieur d'un réseau comme étant la superposition des ondes incidentes et diffractées tandis que le champ à l'intérieur du réseau est exprimé sous forme d'ondes couplées. Nous donnons ici un schéma simplifié de cette méthode. La structure illustrée est composée de 3 régions : les régions 1 et 2 d'indice de réfraction respective  $n_1$  et  $n_2$  sont des milieux homogènes semi-infinis. La région 3 est un réseau lamellaire non magnétique considéré comme uniforme et infini selon  $y$ , de



période  $\Lambda$  selon  $x$ , d'épaisseur  $\Delta h$  selon  $z$ , et de facteur de remplissage des pistes  $f$ . Nous considérons le cas d'une onde incidente transverse électrique. Nous nous plaçons aussi dans le cas classique de la diffraction planaire où les ondes incidentes et diffractées sont toutes contenues dans le plan d'incidence celui-ci étant orthogonal aux pistes du réseau. (Le cas de la diffraction conique ne sera pas abordé, l'angle azimutal est donc nul).

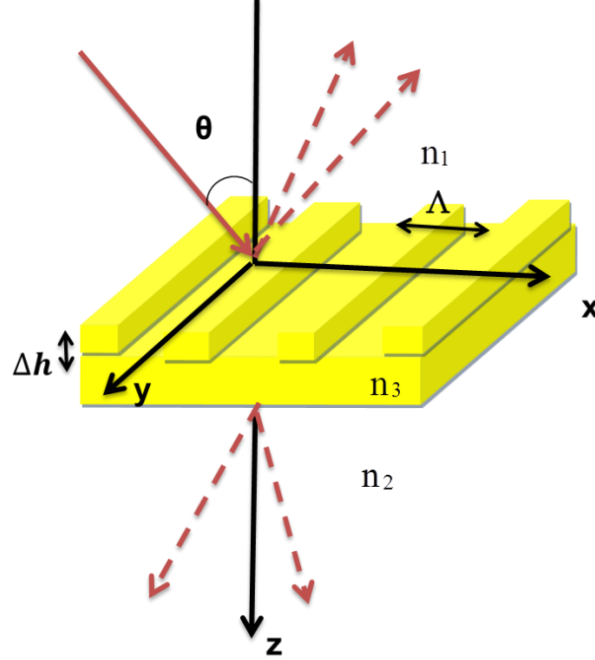


Figure 2. 13: Illustration de la configuration du réseau schématisant une onde plane incidente sur un réseau, en créant ainsi des ondes diffractées : réfléchies et transmises (en pointillés)

Le réseau étant périodique de période  $\Lambda$ , la permittivité relative peut se décomposer en série de Fourier.

$$\varepsilon(x) = \sum_{-N}^N \varepsilon_p e^{j \frac{2\pi p}{\Lambda} x} \quad (\text{II.12})$$

Avec  $n=2N+1$  est le nombre d'harmoniques retenues dans la décomposition de Fourier. Dans le cas simple d'un réseau avec une alternation de pistes appelées « ridges » et de fentes appelées « grooves » d'indice de réfraction respectif,  $n_{rd}$  et  $n_{gr}$ , les harmoniques de Fourier  $\varepsilon_p$  sont déterminées par:

$$\hat{\varepsilon}_0 = n_{rd}^2 f + n_{gr}^2 (1 - f) \quad (\text{II.13})$$

$$\hat{\varepsilon}_p = (n_{rd}^2 - n_{gr}^2) \frac{\sin(\pi p f)}{\pi p}$$

Pour  $p \neq 0$

(II.14)

#### 2.1.2.1.1. Expressions des vecteurs d'onde

On définit le vecteur d'onde du champ incident :  $k_{\text{inc}} = k_0 n_1 \begin{pmatrix} \sin \theta \\ 0 \\ \cos \theta \end{pmatrix}$  avec  $k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$

$\lambda$  étant la longueur d'onde incidente dans le vide. Le champ incident  $E_{\text{inc}}$  est normal au plan et est donné par :

$$E_{\text{inc}} = E_0 e^{[jk_0 n_1 (\sin \theta x + \cos \theta z)]} \quad (\text{II.15})$$

On note  $k_{\ell,p}$  le vecteur de l'onde diffractée d'ordre  $p$ . Le cas  $\ell=1$  correspond à l'onde réfléchie dans le milieu (1) tandis que  $\ell=2$  correspond à l'onde transmise dans le milieu (2).

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Périodicité de la structure selon } x: \quad k_{\ell,p}^x = k_{\text{inc}}^x + p \frac{2\pi}{\Lambda} \\ \text{si } \sqrt{(k_p^x)^2 + (k_p^y)^2} < k_0 n_\ell \text{ alors: } \quad k_{\ell,p}^z = \sqrt{(k_0 n_\ell)^2 - (k_p^x)^2 - (k_p^y)^2} \\ \text{si } \sqrt{(k_p^x)^2 + (k_p^y)^2} > k_0 n_\ell \text{ alors: } \quad k_{\ell,p}^z = -j \sqrt{(k_p^x)^2 + (k_p^y)^2 - (k_0 n_\ell)^2} \end{array} \right.$$

#### 2.1.2.1.2. Expression du champ électrique dans les différents milieux

En dehors du réseau, le champ électrique est la superposition des ondes planes incidentes et diffractées. Nous pouvons l'exprimer sous forme d'un développement de Rayleigh.

$$E_1 = E_{\text{inc}} + \sum_p R_p e^{j(k_p^x x - k_{1,p}^z z)} \quad (\text{II.16})$$

$$E_2 = \sum_p T_p e^{j(k_p^x x + k_{2,p}^z (z - \Delta h))} \quad (\text{II.17})$$

Les vecteurs  $R_p$  et  $T_p$  correspondent aux amplitudes complexes respectivement de l'onde diffractée réfléchie ou diffractée transmise d'ordre  $p$ . Le problème des réseaux réside dans la recherche de ces amplitudes.

Les champs électriques et magnétiques à l'intérieur du réseau sont décomposés en série de Fourier généralisée :

$$E_y = \sum_p \hat{E}_p^y(z) e^{jk_p^x x} \quad (\text{II.18})$$

$$H_x = -j \sqrt{\frac{\epsilon_0}{\mu_0}} \sum_p \hat{H}_p^x(z) e^{jk_p^x x} \quad (\text{II.19})$$

$\epsilon_0$  et  $\mu_0$  étant la permittivité et la perméabilité du vide respectivement, avec  $\hat{E}_p^y(z)$  et  $\hat{H}_p^x(z)$  les amplitudes complexes des champs électriques et magnétiques pour chaque harmonique d'ordre  $p$ .

#### 2.1.2.1.3. Équation de propagation à l'intérieur du réseau

Selon l'équation de Maxwell Faraday projetée suivant  $x$  :

$$\nabla \times E = -\frac{\partial B}{\partial t} \text{ donc } \frac{\partial E^y}{\partial x} = j\omega\mu_0 H^z \quad (\text{II.20})$$

Nous remplaçons les champs par leurs décompositions en série de Fourier :

$$\forall p \in \mathbb{Z}, \frac{\partial \hat{E}_p^y}{\partial x} = k_0 \hat{H}_p^x \quad (\text{II.21})$$

Selon l'équation de Maxwell Ampère projetée suivant  $y$  :

$$\nabla \times H = \frac{\partial D}{\partial t} \text{ donc } \frac{\partial H^x}{\partial z} - \frac{\partial H^z}{\partial x} = -j\omega\epsilon_0 \epsilon E^y \quad (\text{II.22})$$

Selon l'équation de Maxwell Ampère projetée suivant  $z$  :

$$\begin{cases} \frac{\partial H^z}{\partial x} = -\frac{1}{j\omega\mu_0} \frac{\partial^2 E^y}{\partial x^2} \\ \frac{\partial H^x}{\partial z} = -j\omega\epsilon_0 \epsilon E^y + \frac{1}{j\omega\mu_0} \frac{\partial^2 E^y}{\partial x^2} \end{cases} \quad (\text{II.23})$$

Nous remplaçons les champs et la permittivité par leurs séries de Fourier et nous pouvons déduire de l'équation (II.23) que :

$$\forall (p) \in \mathbb{Z}, \quad \frac{\partial \hat{H}_p^x}{\partial z} = -k_0 \sum_q \epsilon_{p-q} \hat{E}_p^y + \frac{(k_p^x)^2}{k_0} \hat{E}_p^y \quad (\text{II.24})$$

En faisant un changement de variable  $z' = k_0 z$  nous obtenons

$$\forall p \in \mathbb{Z}, \frac{\partial \hat{E}_p^y}{\partial z'} = \hat{H}_p^x$$

$$\frac{\partial \hat{H}_p^x}{\partial z'} = \left( \frac{k_p^x}{k_0} \right)^2 \hat{E}_p^y - \sum_q \varepsilon_{q-p} \hat{E}_p^y \quad (\text{II.29})$$

Soit  $n$  le nombre d'harmoniques, posons :

- $\hat{E}^y$ : vecteur colonne de dimension  $N$  qui contient les composantes  $\hat{E}_n^y$
- $K^x$  : matrice diagonale composée de  $(n, n)$  éléments et égal à  $\frac{k_n^x}{k_0}$
- $[\varepsilon]$ : matrice de Toeplitz des permittivités relatives du matériau dont les éléments diagonaux correspondent à l'ordre  $p=0$  et les éléments en dessus (en dessous) de la diagonale correspondent aux ordres  $p<0$  ( $p>0$ ). Cette matrice est bien établie dans [Lalanne et Morris 1996].

$$[\varepsilon] = \begin{pmatrix} \hat{\varepsilon}_0 & \hat{\varepsilon}_{-1} & \cdots & \hat{\varepsilon}_{-2N} \\ \hat{\varepsilon}_1 & \hat{\varepsilon}_0 & \cdots & \vdots \\ & & & \hat{\varepsilon}_1 \\ \hat{\varepsilon}_{2N} & & & \hat{\varepsilon}_0 \end{pmatrix}$$

On a donc

$$\begin{cases} \frac{\partial \hat{E}^y}{\partial z'} = \hat{H}^x \\ \frac{\partial \hat{H}^x}{\partial z'} = ((K^x)^2 - [\varepsilon]) \hat{E}^y \end{cases} \quad (\text{II.30})$$

Posons  $M$  une matrice carrée de dimension  $n$ , avec  $M = (K^x)^2 - [\varepsilon]$ , on obtient donc un système matriciel qui regroupe les relations de Maxwell pour chaque harmonique :

$$\frac{\partial^2 \hat{E}^y}{\partial z'^2} = M \hat{E}^y \quad (\text{II.31})$$

La résolution de cette équation différentielle nécessite la diagonalisation de la matrice  $M$ . Nous introduisons donc les vecteurs propres de  $M$

$$\forall p \in [1, n], W_p = \begin{pmatrix} w_{1p} \\ \vdots \\ w_{np} \end{pmatrix} \quad (\text{II.32})$$

et les valeurs propres  $A W_p = v_m^2 W_p$

$$\frac{\partial^2 \widehat{E}^y}{\partial z'^2} = \begin{bmatrix} v_1^2 & \cdots & 0 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \cdots & v_n^2 \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \widehat{E}_1^y \\ \vdots \\ \widehat{E}_n^y \end{pmatrix} \quad (\text{II.33})$$

$$\frac{\partial^2 \widehat{E}_m^y}{\partial z'^2} = v_m^2 \widehat{E}_m^y \quad (\text{II.34})$$

Nous aboutissons à :

$$\forall (p) \in [1; n], \exists (c_m^+, c_m^-) \in \mathbb{R}^2 / \forall z' \in ]0, k_0 \Delta h[ ,$$

$$\widehat{E}_m^y(z') = c_m^+ e^{-v_m z'} + c_m^- e^{v_m(z' - k_0 \Delta h)} \quad (\text{II.35})$$

$$\widehat{H}_m^x(z') = v_m (-c_m^+ e^{-v_m z'} + c_m^- e^{v_m(z' - k_0 \Delta h)}) \quad (\text{II.36})$$

Si nous revenons à la base initiale utilisant la variable  $z$ , les harmoniques spatiales  $\widehat{E}_p^y$  et  $\widehat{H}_p^x$  se mettent respectivement sous la forme d'une somme d'ondes qui se propagent le long de  $z$ .

$$\widehat{E}_p^y(z) = \sum_{m=1}^n w_{pm} (c_m^+ e^{-v_m k_0 z} + c_m^- e^{v_m k_0 (z - \Delta h)}) \quad (\text{II.37})$$

$$\widehat{H}_p^x(z) = \sum_{m=1}^n w_{pm} v_m (-c_m^+ e^{-v_m k_0 z} + c_m^- e^{v_m k_0 (z - \Delta h)}) \quad (\text{II.38})$$

L'expression finale du champ dans les 3 régions étant établie, il reste à déterminer  $R_p, T_p, c_m^+, c_m^-$  à partir de la continuité de composantes tangentielles :

Continuité de  $E_y$  à l'interface  $z = 0$  :

$$\widehat{E}_p^y(0) = \delta_{0P} + R_P \quad (\text{II.39})$$

Continuité de  $H_x$  à l'interface  $z = 0$

$$\widehat{H}_p^x(0) = j \left( \frac{K_{2,p}^z}{K_0} R_P - \delta_{0P} n_1 \cos \theta \right) \quad (\text{II.40})$$

Continuité de  $E_y$  à l'interface  $z = \Delta h$  :

$$\hat{E}_p^y(\Delta h) = T_p \quad (\text{II.41})$$

Continuité de  $H_x$  à l'interface  $z = \Delta h$ :

$$\hat{H}_p^x(0) = -j \left( \frac{K_{2,p}^z}{K_0} T_p \right)$$

Si nous gardons le même raisonnement dans le cas de la polarisation TM, nous obtenons la relation suivante à la place de (II.30) :

$$\frac{\partial^2 \hat{E}^y}{\partial z'^2} = k_0^2 [\epsilon] (K^x [\epsilon]^{-1} K^x - I) \hat{E}^y$$

#### 2.1.2.2. Matrice de transfert T

Premièrement, nous opérons un découpage en  $n$  sous-couches de la structure à étudier. Nous obtenons donc un empilement de couches pour les pistes du réseau. La FMM permet de calculer les ondes couplées qui se propagent dans les différents milieux périodiques. Il faut donc ensuite relier les champs de part et d'autre du réseau en établissant une relation matricielle (Silberstein 2002). Pour bien expliquer ces étapes, nous revenons aux équations (II.37) et (II.38) et nous proposons de calculer la matrice  $T$  (Transfert) qui permet d'établir une relation matricielle de part et d'autre du réseau :

À l'interface  $z = 0$ , nous avons

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_p^y \\ \hat{H}_p^x \end{pmatrix} (z) = \begin{pmatrix} w & w \\ -wv_m & wv_m \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e^{-v_m k_0} & 0 \\ 0 & e^{v_m k_0(z-d)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_m^+ \\ c_m^- \end{pmatrix} \quad (\text{II.42})$$

À l'interface  $z = \Delta h$ , nous avons

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_p^y \\ \hat{H}_p^x \end{pmatrix} (z + \Delta h) = \begin{pmatrix} w & w \\ -wv_m & wv_m \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e^{-v_m k_0(z+\Delta h)} & 0 \\ 0 & e^{v_m k_0(z)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_m^+ \\ c_m^- \end{pmatrix} \quad (\text{II.43})$$

Nous calculons donc la relation matricielle de part et d'autre du réseau :

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_p^y \\ \hat{H}_p^x \end{pmatrix} (z + \Delta h) = \underbrace{\begin{pmatrix} w & w \\ -wv_m & wv_m \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e^{-v_m k_0 \Delta h} & 0 \\ 0 & e^{v_m k_0 \Delta h} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \frac{w^{-1}}{2} & \frac{(-wv_m)^{-1}}{2} \\ \frac{w^{-1}}{2} & \frac{(wv_m)^{-1}}{2} \end{pmatrix}}_{\mathbf{T}} \begin{pmatrix} \hat{E}_p^y \\ \hat{H}_p^x \end{pmatrix} (z) \quad (\text{II.44})$$

En développant nous obtenons la matrice de transfert suivante

$$T = \begin{pmatrix} w \operatorname{ch}(v_m k_0 \Delta h) w^{-1} & w \operatorname{sh}(v_m k_0 \Delta h) (-w v_m)^{-1} \\ -w v_m \operatorname{sh}(v_m k_0 \Delta h) w^{-1} & (-w v_m) \operatorname{ch}(v_m k_0 \Delta h) (-w v_m)^{-1} \end{pmatrix} \quad (\text{II.45})$$

Si nous considérons un problème à  $n$  interfaces, les amplitudes des ondes diffractées seront données par le produit des matrices de transfert en tenant compte des différentes sous-couches.

Les matrices de transfert  $T$  présentent une forme instable à cause de  $v_m k_0$ . Ce terme présente des instabilités numériques dans le cas des grandes valeurs et aussi dans le cas des petites valeurs (Li et al. 1993). Concrètement, ces termes renseignent sur l'épaisseur du réseau étudié et sur le nombre d'ordre de Fourier. Ceci impose des restrictions sur ces deux paramètres. L'amélioration de la stabilité numérique de la FMM nécessite donc la modification de quelques étapes du calcul (Lalanne et al. 1996). L'approche de la matrice  $S$  est une autre méthode plus adéquate et permet de remédier à ce problème. Elle est détaillée dans le paragraphe suivant.

#### 2.1.2.3. Matrice de diffraction $S$ (Scattering matrix)

Pour s'affranchir de ce problème nous utilisons donc la matrice  $S$  associée (Cotter et al. 1995). En effet, pour une couche (une structure) la matrice  $S$  permet de faire le lien entre les ondes entrantes et les ondes sortantes. Pour résoudre un problème à  $n$  interfaces, les amplitudes des ondes diffractées sont donc données par le produit des matrices  $S$  en tenant compte des différentes sous-couches. Le principe de l'algorithme est schématisé par la figure (2. 14).

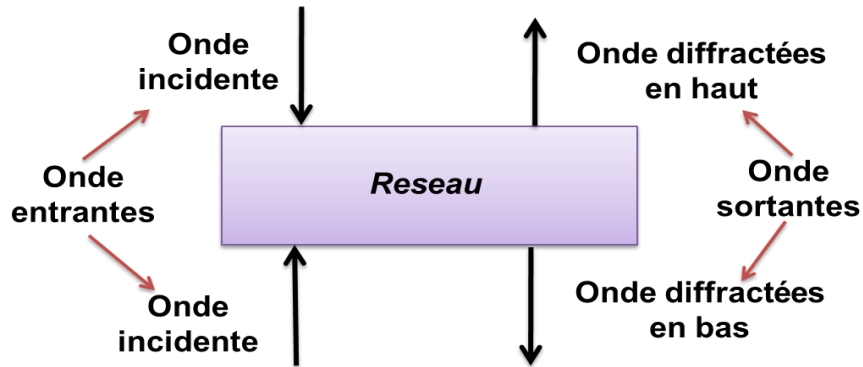


Figure 2. 14: Principe de la matrice  $S$  pour un réseau de diffraction

Dans le cas d'une couche, la matrice  $S$  est définie comme suit :

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_{p(z+\Delta h)}^y \\ \hat{H}_{p(z)}^x \end{pmatrix} = S \begin{pmatrix} \hat{E}_{p(z)}^y \\ \hat{H}_{p(z+\Delta h)}^x \end{pmatrix} \quad (\text{II.46})$$

Ce qui permet de remonter à la matrice  $S$

$$S = \begin{pmatrix} w \frac{1}{\text{ch}(v_m k_0 \Delta h)} w^{-1} & w \text{th}(v_m k_0 \Delta h) (-w v_m)^{-1} \\ w v_m \text{th}(v_m k_0 \Delta h) w^{-1} & (-w v_m) \frac{1}{\text{ch}(v_m k_0 \Delta h)} (-w v_m)^{-1} \end{pmatrix} \quad (\text{II.47})$$

### 2.1.3. Méthode des éléments finis

#### 2.1.3.1. Méthode des éléments finis (FEM)

Cette méthode numérique est couramment utilisée pour la résolution des équations aux dérivées partielles et a permis la modélisation numérique de différents phénomènes électromagnétiques (Jin 1993). Grâce à sa souplesse et sa grande généralité, elle a donné naissance à des logiciels commerciaux comme HFSS ou Comsol *multiphysics*. L'idée fondamentale des éléments finis est de discrétiser les équations en décomposant le domaine d'étude en plusieurs sous domaines possédant une forme géométrique relativement simple. Donc, pour résoudre un problème en utilisant la méthode des éléments finis, il est tout d'abord nécessaire de transformer le système d'équations différentielles en une formulation intégrale. Cette formulation passe par la discrétisation des équations de Maxwell sur un ensemble d'éléments et conduit à un système algébrique où les inconnues sont exprimées aux nœuds ou aux arêtes de chaque maille. Nous détaillerons dans la section suivante les différentes étapes permettant de résoudre les équations de Maxwell dans un réseau 1D par FEM.

##### 2.1.3.1.1. Le maillage

La FEM permet de discrétiser le problème à partir du maillage du domaine global d'étude  $\Omega$ . Ceci permet de décomposer le domaine en plusieurs petits sous-domaines appelés mailles ou éléments finis. L'ensemble des mailles  $\Omega_e$  reconstitue le domaine globale  $\Omega$  tel que  $\Omega = \bigcup_e \Omega_e$ .

La qualité de l'approximation par éléments finis est directement liée à la géométrie et la taille des mailles. En effet, le choix des mailles dépend de la structure du domaine global d'étude. Les mailles triangulaires et rectangulaires sont les plus utilisées pour l'étude des structures 2D, par contre pour des structures 3D, les mailles sont souvent des tétraèdres, des cubes et des pyramides. Nous présentons dans la figure 2. 15 un exemple de maillage (mailles triangulaires) illustrant un réseau métallique lamellaire, en contact avec un milieu diélectrique. Nous considérons une couche biologique de faible épaisseur est placée sur ce réseau.

Le maillage peut se faire par le biais d'un logiciel de maillage par exemple le mailleur « Gmsh » ou bien un mailleur développé sous environnement Matlab. Nous estimons que cette étape est cruciale et délicate car la précision des résultats dépend fortement du nombre de mailles et de leur taille. Pour avoir un maillage suffisamment précis sans être trop fin, celui-ci devrait être plus serré dans les zones où nous estimons que les solutions varient beaucoup. Nous détaillerons dans le paragraphe (1.3.4.1) les contraintes liées aux choix du maillage dans le cadre de notre étude.



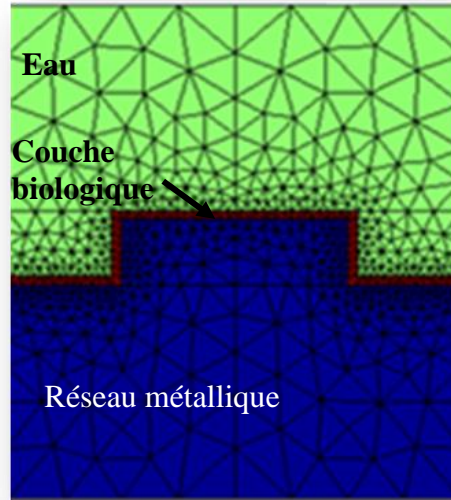


Figure 2. 15: Exemple d'un maillage triangulaire d'un réseau lamellaire. Le réseau est couvert par une fine couche biologique.

#### 2.1.3.1.2. Le complexe de Whitney et les fonctions d'interpolation

Un élément issu du complexe de Whitney représente des mailles ayant la même forme géométrique (Garg 2008). Chaque maille fait partie de la famille d'objets inventés par Hassler Whitney 1959 et possède un certain nombre de nœuds, d'arêtes et de facettes. Afin de calculer une grandeur physique (notamment le champ électrique et magnétique) associée à un grand domaine 1D (une période de réseau lamellaire), nous procédons par la discrétisation soit de sa valeur du champ aux nœuds des mailles (approximation par éléments nodaux) soit par sa circulation le long des arêtes (approximation par éléments d'arêtes).

##### ➤ approximation par éléments nodaux

Nous considérons  $\lambda_n$  la coordonnée barycentrique définie pour le nœud  $i$  tel que :

$$\lambda_i(k) = \begin{cases} 0 & \text{si } i \neq k \\ 1 & \text{si } i = k \end{cases}$$

Les fonctions nodales sont définies par les éléments de Whitney d'ordre 0 tel que  $w_i = \lambda_i$ . L'interpolation d'une fonction scalaire  $u$  est donnée par :

$$u = \sum_{\text{nœuds}} w_i^n u_i \quad (\text{II.48})$$

où  $u_i$  sont les valeurs de  $u$  aux nœuds.

##### ➤ approximation par éléments d'arêtes

Soit une arête  $a$  définie à l'extrémité par deux nœuds  $h$  et  $k$ , les éléments de Whitney d'ordre 1 sont créés par un champ de vecteurs :  $w_i^a = \lambda_h \text{grad} \lambda_k - \lambda_k \text{grad} \lambda_h$ .

Un champ de vecteur  $v$  est interpolé sur les arêtes :

$$v = \sum_{\text{arêtes}} w_i^a \bar{v}_i \quad (\text{II.49})$$

avec  $\bar{v}_i$  la circulation de  $v$  le long de l'arête.

### 2.1.3.1.3. La formulation par éléments finis

Nous présentons dans ce paragraphe les détails théoriques sur lesquels la méthode des éléments finis est fondée tout en restant dans le cadre bidimensionnel (réseau lamellaire). Nous proposons tout d'abord d'écrire l'expression du champ électrique en polarisation TE dans le réseau :

$$\frac{\partial^2 E^y}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 E^y}{\partial z^2} - k_0^2 \epsilon_r E^y = 0 \quad (\text{II.50})$$

$k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$  et  $\lambda$  sont le vecteur et la longueur d'onde de l'onde incidente dans le vide,  $\epsilon_r$  est la permittivité du métal.

Pour chercher la solution à cette équation aux dérivées partielles, nous réécrivons (II.50) sous la forme suivante :

$$-\text{div}(\text{grad} E^y) - k_0^2 \epsilon_r E^y = 0 \quad (\text{II.51})$$

Nous supposons que l'équation (II.51) est équivalente à une fonction résidu  $R(E)$

$$R(E) = \oint_{\Omega} \varphi (-\text{div}(\text{grad} E^y) - k_0^2 \epsilon_r E^y) d\Omega \quad (\text{II.52})$$

où  $\varphi$  est la fonction test sur le domaine  $\Omega$ .

#### ➤ La formulation faible

Une façon de réaliser cette condition consiste à annuler  $R$  sur l'ensemble du domaine suivant la forme intégrale suivante tendant vers zéro avec la finesse de maillage :

$$\oint_{\Omega} \varphi (-\text{div}(\text{grad} E^y) - k_0^2 \epsilon_r E^y) d\Omega = 0$$

(II.53)

À partir du théorème de Stokes nous obtenons :

$$\oint_{\Omega} \text{grad} \varphi \text{ grad } E^y d\Omega - \int_{\Gamma} \varphi \text{ grad } E^y n \, d\Gamma - k_0^2 \oint_{\Omega} \varphi \varepsilon_r E^y d\Omega = 0 \quad (\text{II.54})$$

L'interpolation du champ électrique permet d'écrire  $E = \sum \lambda_j E_j$  ce qui conduit à :

$$\left( \oint_{\Omega} \text{grad} \lambda_i \text{ grad } \lambda_j d\Omega \right) [E_j] - \left( \int_{\Gamma} \lambda_i \text{ grad} \lambda_j n \, d\Gamma \right) [E_j] - (k_0^2 \oint_{\Omega} \lambda_i \varepsilon_r \lambda_j d\Omega) [E_j] = 0 \quad (\text{II.55})$$

Ceci revient à écrire :

$$\left( \oint_{\Omega} \text{grad} \lambda_i \text{ grad } \lambda_j d\Omega \right) [E_j] - (k_0^2 \oint_{\Omega} \lambda_i \varepsilon_r \lambda_j d\Omega) [E_j] = i\omega\mu_0 \oint_{\Gamma} \lambda_i H_x d\Gamma \quad (\text{II.56})$$

#### ➤ Assemblage et résolution

Le problème consiste alors à résoudre le système algébrique suivant :

$$[K][E] = [\bar{H}] \quad (\text{II.57})$$

Chaque élément de la matrice  $K$  et du vecteur  $\bar{H}$  est associé à un élément de maille qui est donné respectivement par l'expression des matrices élémentaires associées suivant :

$$\begin{cases} K_{ij}^e = \int_{\Omega_e} (\text{grad} \lambda_i \text{ grad} \lambda_j - k_0^2 \lambda_i \varepsilon_r \lambda_j) d\Omega_e \\ \bar{H}_i^e = i\omega\mu_0 \oint_{\Gamma_e} \lambda_i H_x d\Gamma_e \end{cases} \quad (\text{II.58})$$

#### 2.1.4. FEM versus FMM

La FEM présente un certain nombre d'avantages : elle est largement utilisée pour l'étude des propriétés optiques des structures comportant des diélectriques anisotropes. Elle permet aussi une meilleure convergence du calcul dans le cas des réseaux métalliques comparée à l'instabilité numérique que l'on peut rencontrer avec la méthode modale de Fourier. De plus,

cette méthode permet de modéliser les structures à géométrie complexe. Signalons ici, et à titre d'exemple l'étude de la sensibilité d'une biopuce structurée intégrant un réseau sinusoïdal en argent, (Alleyne 2010), tout en comparant la performance des deux méthodes FMM et FEM. Une telle surface lisse a été modélisée par la FMM en s'appuyant sur l'approximation de la décomposition de la structure en marche d'escalier telle que présentée dans la figure (2. 16). Pour la polarisation TE, cette approximation fonctionne correctement pour un réseau diélectrique ou un réseau métallique. En revanche, pour les métaux et en polarisation TM cette approche présente quelques difficultés de convergence dues essentiellement aux coins de ces marches d'escalier. En conclusion, la FEM est la méthode la plus adéquate aux structures de forme complexe (Figure 2. 17). Malgré les multiples avantages de la FEM, cette méthode n'est plus adaptée dans le cas des structures avec des grandes périodes. De plus, contrairement à la méthode FMM, on ne peut pas accéder directement aux coefficients de transmissions et de réflexions. Il paraît donc indispensable de combiner les deux méthodes afin de profiter des différents avantages de chacune d'elles. Nous avons maintenant tous les éléments permettant de justifier notre choix pour cette méthode hybride afin d'étudier une biopuce 2D structurée.

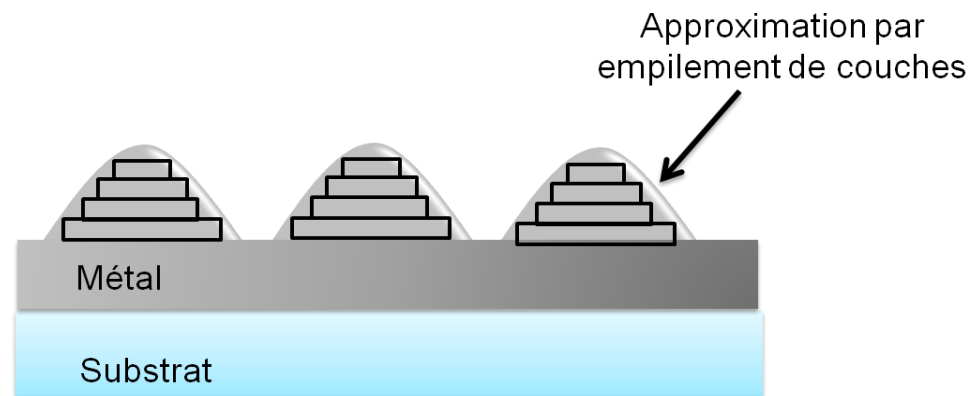


Figure 2. 16: Schéma illustrant l'approximation par empilement de couches utilisées par la FMM pour modéliser un réseau sinusoïdal

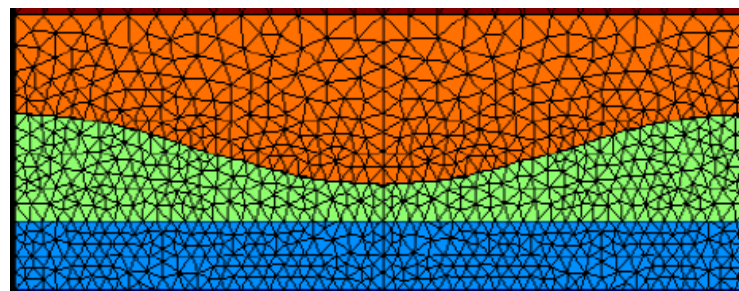


Figure 2. 17: Schéma illustrant un maillage réalisé par le mailleur Gmsh pour modéliser un réseau sinusoïdal.

### 2.1.5. Méthode hybride

Comme nous l'avons déjà mentionné, chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients. La méthode hybride est fondée sur l'association des deux méthodes FMM et FEM (Dossou et al. 2005). Bien que FMM ne puisse pas traiter le cas des géométries complexes, l'utilisation de la FEM pour l'étude de ces structures avec l'utilisation des mailles

finies peut contourner ce problème. Le couplage de FEM avec FMM présente un grand intérêt puisqu'il permet de réduire la taille du domaine. Nous pouvons considérer qu'ils sont complémentaires. Leur association permet donc une meilleure résolution numérique. Cette méthode a été appliquée avec succès dans l'étude de certaines surfaces structurées avec des géométries complexes (Hugonin et al. 2008).

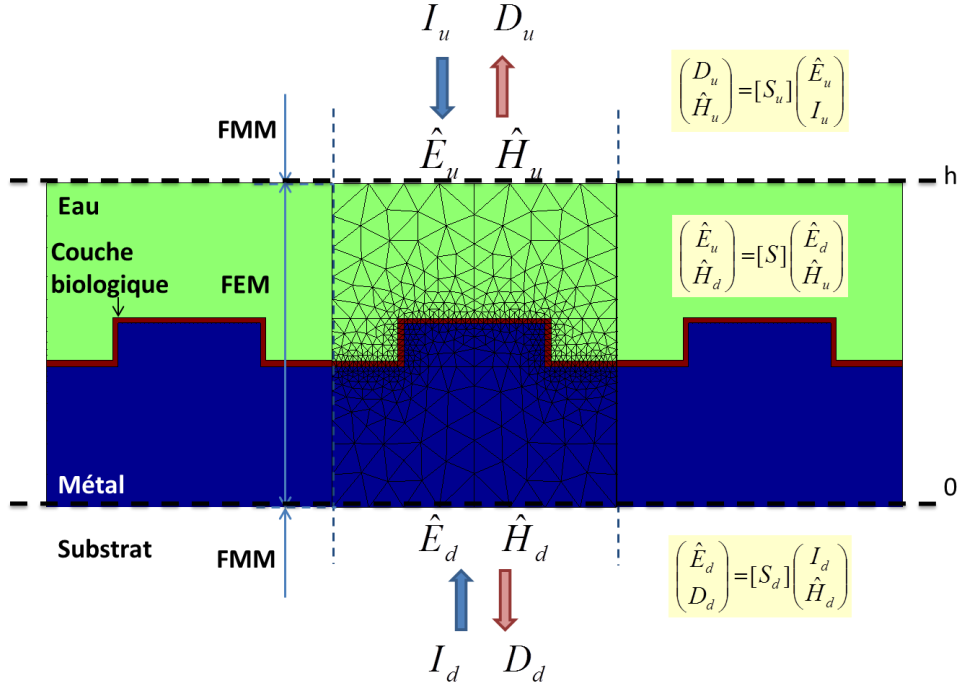


Figure 2. 18: Schéma illustrant les différentes zones calculées par FEM et par FMM dont l'hybridation des deux méthodes se fait à travers le calcul de la matrice  $S$  dans chaque zone.

Nous présentons dans la figure (2. 18) le schéma d'une biopuce structurée intégrant à sa surface un réseau lamellaire sur une couche métallique, le tout déposé sur un substrat. Nous modélisons la couche biologique d'ADN par une couche uniforme d'épaisseur  $1\text{nm}$ . La figure permet de distinguer la zone de la puce, qui est discrétisée dans l'espace de Fourier par la FMM, et la zone de la puce qui est discrétisée dans l'espace réel par la FEM. Pour  $0 < z < h$ , le réseau et une partie du milieu environnant (eau) sont discrétisés dans l'espace réel.

Pour calculer le champ électromagnétique dans ce réseau de diffraction, nous utilisons la FEM. Le domaine étudié est donc découpé en sous-couches différentes, nous pouvons alors exprimer une relation entre les coefficients harmoniques de  $E$  et  $H$  en dessus de la sous-couche supérieure et en dessous de la couche inférieure. La seconde étape consiste à établir un système d'équations algébriques reliant le champ électrique et le champ magnétique à partir de l'équation (II.57) calculée par la FEM. Nous obtenons directement la matrice  $S$  ce qui permet d'hybrider la FEM avec la FMM. Nous détaillons dans le paragraphe suivant les pas de calculs importants de l'hybridation.

#### 2.1.5.1. Hybridation

Nous avons déjà mentionné que dans le cas d'une formulation avec les éléments nodaux, la composante normale du champ  $E_z$  est déterminée à partir des conditions aux limites sur le champ magnétique à travers le contour en haut  $N_u$  et celui en bas  $N_d$  délimitant la surface

d'une maille  $N_0$  (Figure 2. 19). Les contours à droite et à gauche du domaine sont reliés par les conditions de pseudo-périodicité.

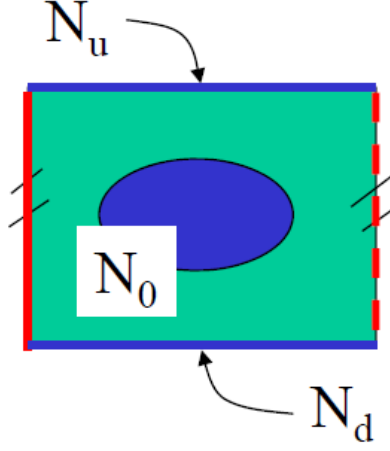


Figure 2. 19: numérotation des éléments de contours d'une maille

Puisque le champ électrique et le champ magnétique sont reliés par le système algébrique suivant  $[K][E] = [\bar{H}]$ , après discrétisation par éléments finis, ce système algébrique prend la forme suivante :

$$\begin{pmatrix} K_{N_0, N_0} & K_{N_0, N} \\ K_{N, N_0} & K_{N, N} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_{N_0}^y \\ E_N^y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \bar{H}_{N_0}^x \\ \bar{H}_N^x \end{pmatrix} \quad (\text{II.66})$$

Ou encore :

$$\begin{pmatrix} E_{(z+h)} \\ E_{(z)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} M_{(z+h), (z+h)} & M_{(z+h), (z)} \\ M_{(z), (z+h)} & M_{(z), (z)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \bar{H}_{(z+h)} \\ \bar{H}_{(z)} \end{pmatrix} \quad (\text{II.67})$$

Avec  $M = (K_{N, N} - K_{N_0, N} \cdot K_{N_0, N_0}^{-1} \cdot K_{N_0, N})^{-1}$ .

L'utilisation de la transformée de Fourier de E et de la transformée de Fourier inverse de H permet d'obtenir directement la matrice T

$$E_y = \sum_{\text{arêtes}} \int_{\Omega_e} \hat{E}_p^y(z) e^{-jk_p^x x} dx \quad (\text{II.68})$$

$$H_x = \sum_p \hat{H}_p^x(z) e^{jk_p^x x} \quad (\text{II.69})$$

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_{(z+h)} \\ \hat{H}_{(z+h)} \end{pmatrix} = (T) \begin{pmatrix} \hat{E}_{(z)} \\ \hat{H}_{(z)} \end{pmatrix}$$

Après quelques transformations mineures, nous pouvons trouver la matrice  $S$  et résoudre ainsi le problème de la FMM

$$\begin{pmatrix} \hat{E}_{(z+h)} \\ \hat{H}_{(z)} \end{pmatrix} = (S) \begin{pmatrix} \hat{E}_{(z)} \\ \hat{H}_{(z+h)} \end{pmatrix}$$

L'algorithme de la figure 2. 20 donne un aperçu général de la procédure suivie.

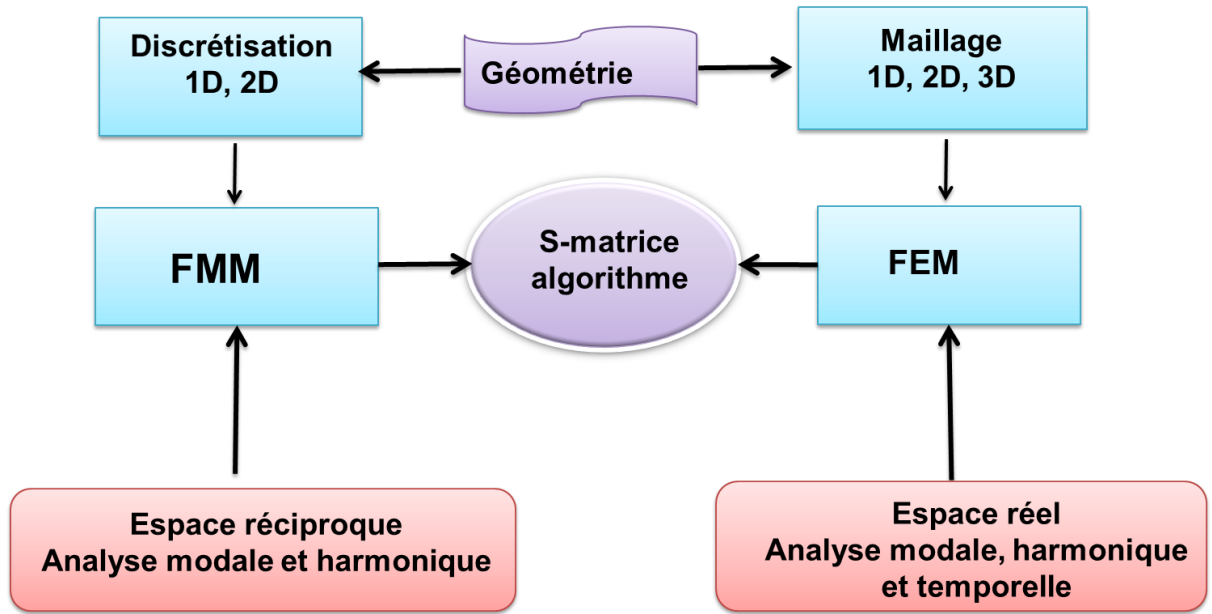


Figure 2. 20: Synoptique récapitulatif de l'hybridation de la méthode d'analyse par FEM et par FMM

#### 2.1.5.2. Validation de la méthode hybride

Afin de valider le modèle hybride, nous avons calculé la réflectivité d'un réseau métallique 1D structuré, posé sur un prisme SF10 et en contact avec un milieu semi-infini (eau). Nous considérons que ce réseau est composé d'un film continu uniforme d'or d'épaisseur 45 nm, sur lequel il y a des structures, formées de rectangles, périodiquement arrangées avec une période arbitrairement choisie de  $\Lambda = 250$  nm (largeur de la structure 200 nm et distance entre les structures 50 nm). La profondeur des structures vaut  $\Delta h = 15$  nm. Nous avons comparé ensuite ce résultat avec le calcul de la courbe de réflectivité associée à la même structure mais en utilisant la FMM (le nombre d'harmoniques  $n_h = 100$  sera justifié ultérieurement). La figure 2. 21 montre une très bonne correspondance entre les deux courbes calculées avec les deux méthodes différentes (FMM /HYB) permettant de prédire le même angle de résonance.

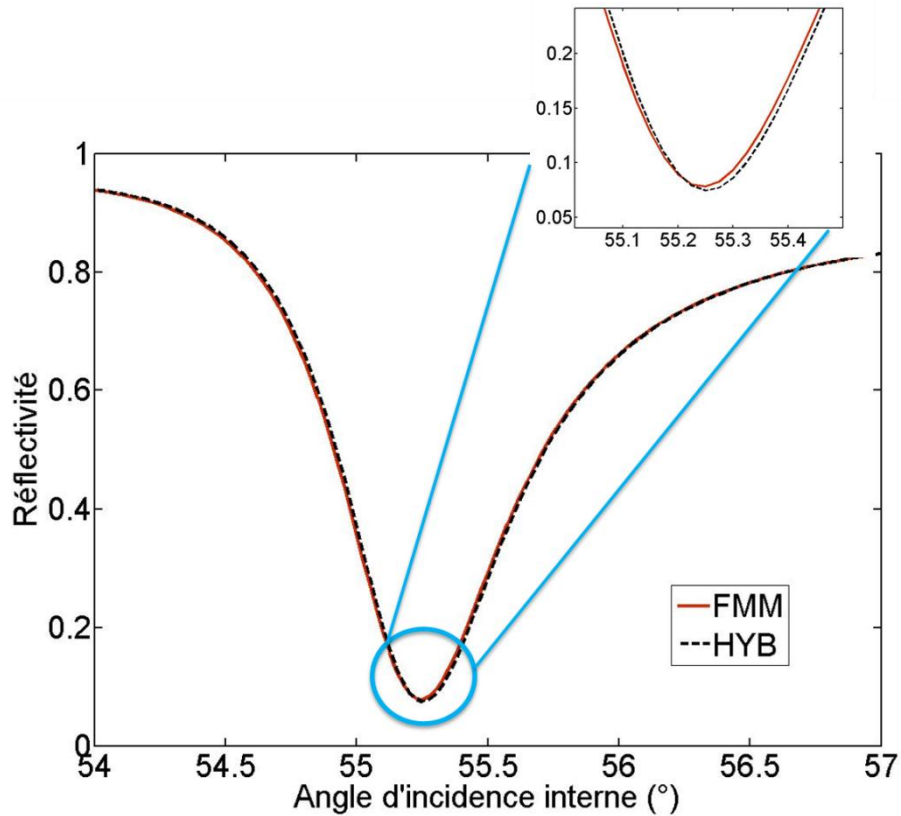


Figure 2. 21: Courbes de réflectivité en fonction des angles calculées pour une longueur d'onde 850 nm et pour une configuration basée sur un prisme SF10 sur lequel posé un film continu uniforme d'or d'épaisseur 45 nm intégrant des structures, formées de rectangles, périodiquement arrangées ( $\Lambda=250$  nm,  $\Delta h = 15$  nm). Le calcul des courbes de réflectivité est effectué en utilisant deux méthodes différentes : la courbe rouge est calculée par la méthode modale de Fourier (FMM) et la courbe noire est calculée par la méthode modale hybride (HYB).

Afin d'estimer l'erreur relative due à l'utilisation des deux méthodes numériques, nous avons calculé la différence entre les deux courbes de réflectivité angulaire déjà calculées (Figure 2. 22). Nous remarquons que la différence maximale est de l'ordre de 1.5 %. Cette différence est négligeable et peut être encore minimisée en augmentant le nombre d'harmoniques pour la méthode FMM et en affinant le maillage pour la méthode HYB. Ceci sera plus illustré dans la section suivante.



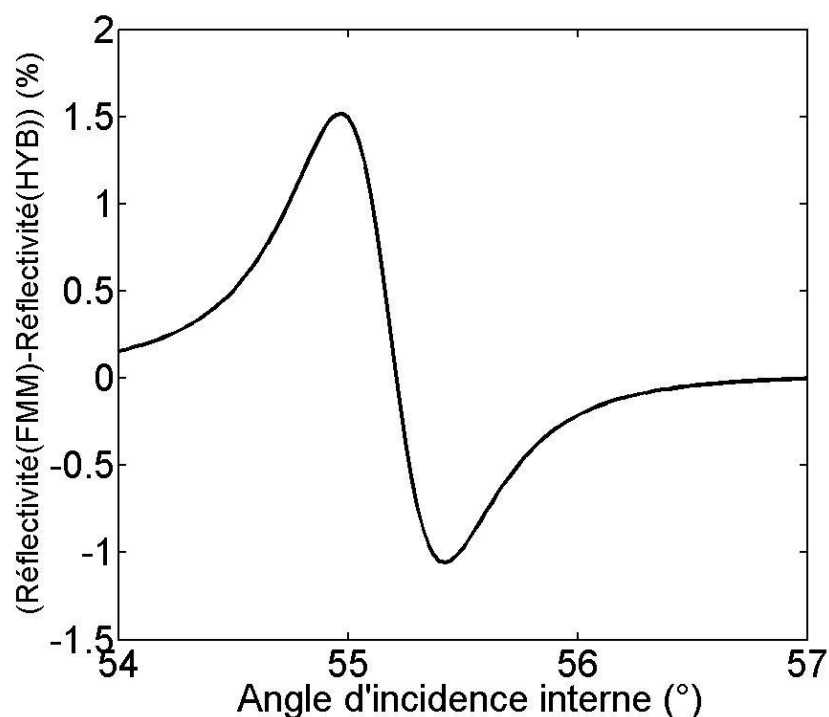


Figure 2. 22: Différence entre la courbe de réflectivité angulaire calculée avec la méthode FMM et celle calculée avec la méthode HYB.

#### 2.1.5.3. Importance du maillage d'un réseau 1D

Dans la pratique, l'opération de maillage est très délicate : en effet le maillage est affiné à l'interface du métal et dans les coins des structures avec un maillage triangulaire non uniforme permettant d'améliorer la performance numérique. Étant donné que notre travail se base sur l'étude de la réponse de la puce due à l'ajout d'une couche biologique de 1 nm, nous maillons finement la zone correspondante à cette couche biologique (les mailles dans cette zone sont des triangles avec deux arêtes de dimensions de l'ordre de 1 nm). Nous choisissons de mailler plus grossièrement les zones qui servent juste à imposer des conditions aux limites à l'infini (Figure 2.23). Notons que le rapport entre la taille de la maille la plus grande et la maille la plus petite ne doit pas être trop important.

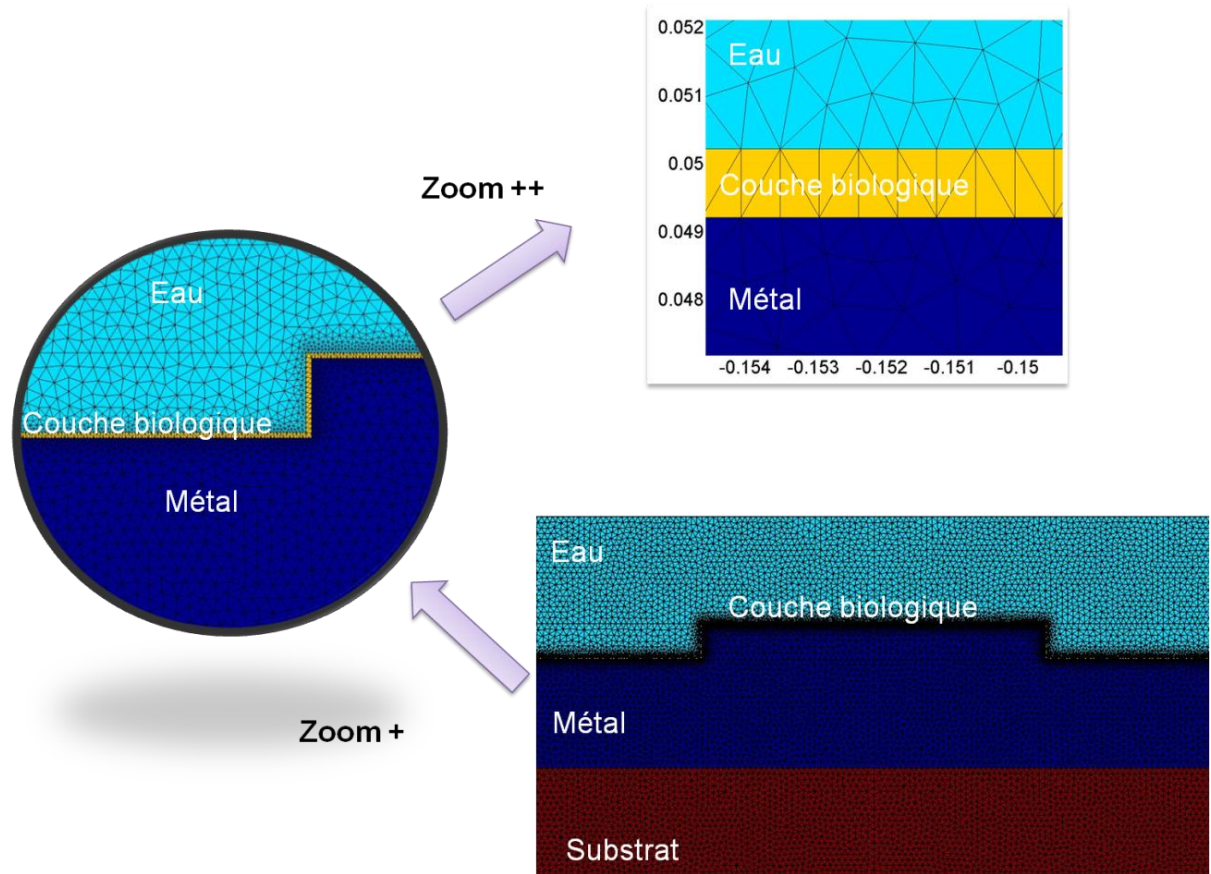


Figure 2. 23: Maillage triangulaire qui est plus fin pour les zones qui correspondent à la surface et aux coins de la structure et aussi à la couche biologique. Nous choisissons de mailler plus grossièrement les zones qui servent juste à imposer des conditions aux limites à l'infini.

Afin de souligner l'importance du maillage dans l'étude de la réponse d'une biopuce structurée, nous avons choisi de rester dans le cas de la structure déjà décrite dans la section précédente. Nous avons calculé à partir de la courbe de réflectivité angulaire, sans et avec couche biologique, la valeur absolue du maximum de la variation de réflectivité  $|\Delta R_{\max}|$  due à l'ajout d'une couche biologique.  $|\Delta R_{\max}|$  est calculée par la méthode FMM pour différentes valeurs des harmoniques variant de 10 à 120. Elle est ensuite calculée par la méthode HYB en augmentant le nombre des nœuds de calcul de 1749 à 10 810 (Figure 2. 24).

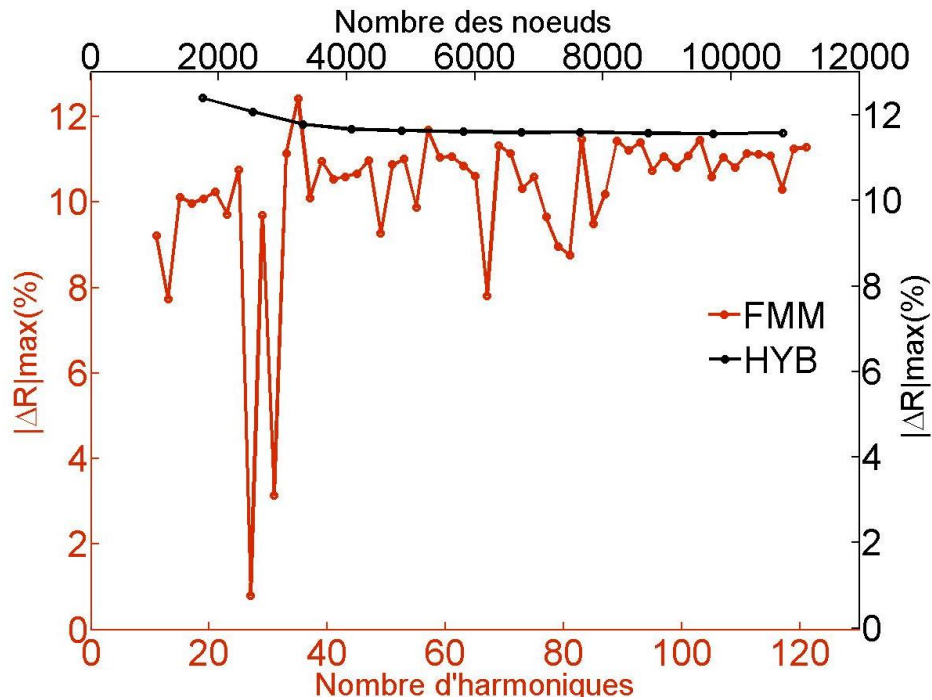


Figure 2. 24:  $|\Delta R|_{\max}$  est calculée par la méthode FMM pour différentes valeurs d'harmonique. Elle est aussi calculée par la méthode HYB en augmentant le nombre de nœuds de calcul.

Il est très important de remarquer que les valeurs calculées, dans le cas de la structure choisie, par la méthode FMM oscillent avec l'augmentation du nombre d'harmoniques avant de converger pour des ordres supérieurs à 100 harmoniques. En revanche, pour la méthode HYB, ces valeurs convergent rapidement et atteignent un plateau pour un nombre de nœuds  $\approx 2800$ . À partir de ce nombre de nœuds il est inutile d'affiner davantage le maillage. Ceci est une preuve de la robustesse de la méthode HYB. La convergence rapide de la méthode HYB se manifeste aussi par un gain en terme de temps de calcul. En effet nous avons tracé le temps nécessaire pour effectuer le calcul de la  $|\Delta R|_{\max}$  par les deux méthodes numériques mais avec la même station de calcul (Figure 2. 25). Il paraît évident que la méthode FMM est la plus rapide pour  $n_h < 100$ . Cependant il faut tenir compte de la convergence du calcul qui nécessite plus d'harmoniques. Or, avec cette condition la FMM devient moins rapide que la méthode HYB. Les multiples avantages de la méthode, plus particulièrement sa convergence rapide et le gain en terme de temps sont les raisons pour lesquelles nous avons choisi la méthode HYB. Toutefois la finesse du maillage est critique pour réussir la modélisation par la méthode HYB et avoir un calcul suffisamment précis. De plus le maillage ne doit pas être inutilement fin, car cela engendre une augmentation du temps de calcul surtout dans le cas d'une étude paramétrique où nous varions les dimensions de la structure. Un compromis entre le coût en temps de calcul et la finesse du maillage est nécessaire dans le cadre de notre étude.

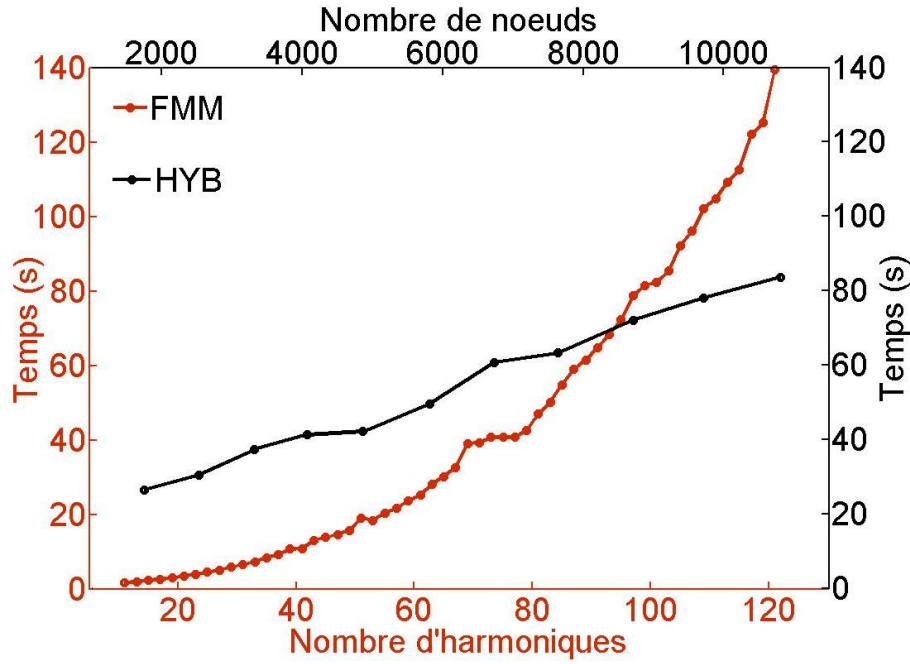


Figure 2. 25 : Temps de calcul du  $|\Delta R_{\max}|$  estimé pour la méthode FMM pour différentes valeurs d'harmoniques et pour la méthode HYB en augmentant le nombre de nœuds de calcul.

#### 2.1.5.4. Accélération des calculs

##### 2.1.5.4.1. Calcul des éléments de la matrice [K]

Afin d'explorer le potentiel des surfaces structurées pour la bio-détection ainsi que l'étude de l'impact de la transition du nanomètre au micromètre sur les phénomènes plasmoniques, il est nécessaire de varier les dimensions de la structuration en testant un grand nombre de configurations caractérisées par des dimensions allant du domaine nanométrique vers le domaine micrométrique. Pour atteindre une efficacité suffisante du modèle numérique adopté dans ce travail et dépasser la barrière du temps qui frêne les études paramétriques nous avons tenté d'accélérer le code en optimisant le calcul des éléments de la matrice [K] (II.57).

Pour une structure de période  $\Lambda$  et d'extrémité  $d$  et  $g$ , illustrée dans la figure 2. 26 les conditions de périodicité imposent que le champ électrique soit pseudo-périodique  $E_d = E_g e^{jk_0 n_1 \Lambda \sin \theta}$ . Cela entraîne, pour une longueur d'onde fixée, qu'une grande partie des valeurs des éléments de la matrice [K] associées aux nœuds des mailles de la partie de la structure N1, ne varie pas quand  $\theta$  varie (Figure 2. 26-A). Seul un nombre réduit des éléments des nœuds attachés aux mailles de la partie N2 varient (Figure 2. 26-B). Ceci offre la possibilité de calculer une seule fois les éléments de N1.

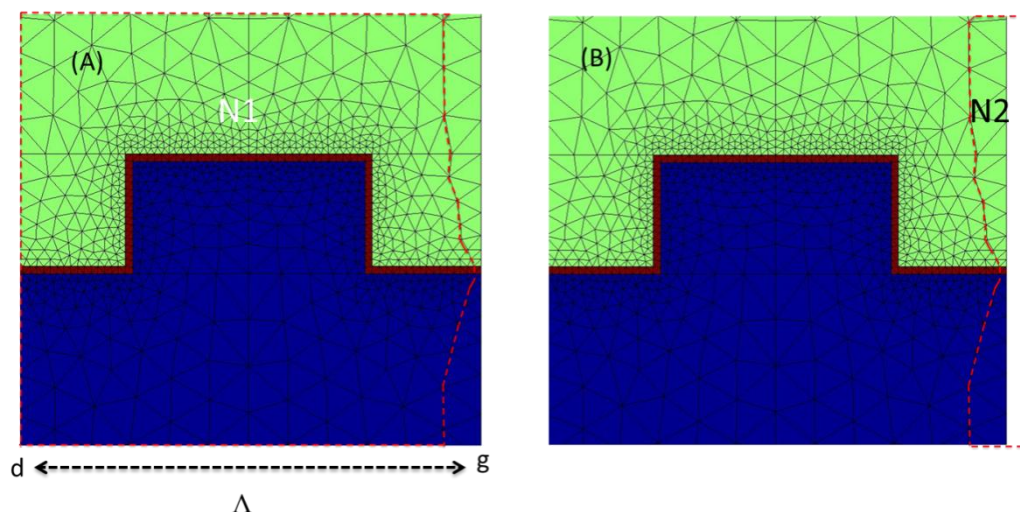


Figure 2. 26: (A) Les éléments de la matrice  $S$  correspondant aux nœuds des mailles associées à la partie de la structure N1 sont calculés une seule fois. (B) Les éléments correspondant aux nœuds des mailles de la partie N2 qui sont en contact avec la deuxième structure changent de valeur en variant  $\theta$ .

#### 2.1.5.4.2. Pas adaptatif

Pour optimiser encore le temps du calcul, nous avons utilisé des pas adaptatifs dans le calcul de la réflectivité de chaque structure. Cette astuce revient à augmenter le nombre de points de calcul de réflectivité, à une longueur d'onde fixe, au fur et à mesure que l'on s'approche de l'angle de résonance. Aux alentours du minimum de réflectivité nous atteignons une résolution angulaire de l'ordre de  $0.01^\circ$ . Dans la figure 2. 27, nous remarquons que le nombre de points de calcul est stable quand la courbe est stable (cas de la polarisation TE). En revanche quand les valeurs consécutives de réflectivité varient (cas de la polarisation TM) le nombre de points augmente et atteint son maximum quand la réflectivité est minimale.

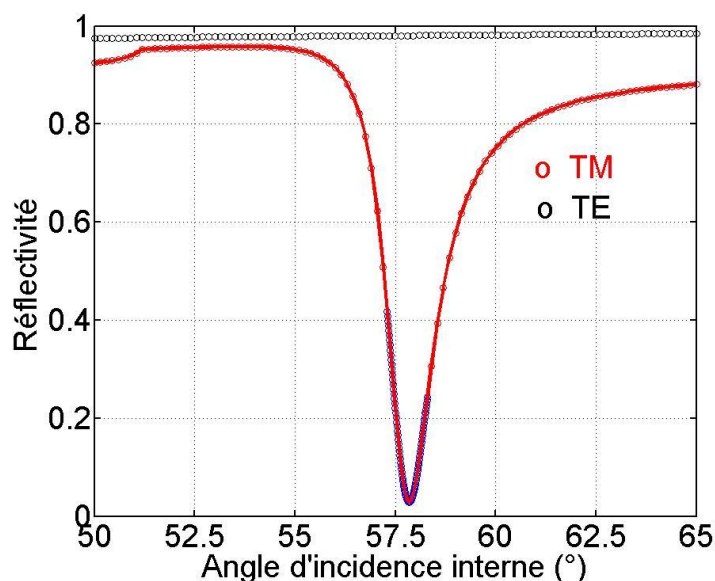


Figure 2. 27: Réflectivité en fonction des angles pour une longueur d'onde 850 nm et pour une structure rectangulaire (largeur de la structure 20 nm et distance entre les structures 20 nm) montrant un exemple des points de calcul uniforme pour la réflectivité en mode TE et un exemple des points de calcul en utilisant le pas adaptatif pour la réflectivité en mode TM.



### 2.1.5.4.3. *Intervalle variable*

Dans le cas d'une biopuce conventionnelle excitée par une longueur d'onde d'incidence 850 nm, l'angle de la résonance est de  $53.43^\circ$  (pour une épaisseur d'or optimale). Afin de gagner au niveau du temps de calcul, nous avons donc choisi de calculer la courbe angulaire de réflectivité autour de cette valeur c'est-à-dire sur un intervalle angulaire limité entre  $52^\circ$  et  $55^\circ$ . Néanmoins si nous incluons l'effet de la structuration, nous nous attendons à ce que la valeur de résonance dépasse dans certains cas, cet intervalle angulaire. Pour ces cas particuliers, nous imposons une condition numérique pour que l'intervalle angulaire de calcul s'élargisse jusqu'à que la réflectivité atteigne sa valeur minimum.

D'une manière générale, le gain issu de toutes ces optimisations offre la possibilité d'accélérer  $\approx 5$  fois le calcul de la réflectivité de la biopuce.

## 2.2. Dispositifs expérimentaux

Les différents modèles numériques que nous venons de présenter permettent de simuler le phénomène de la RPS et la conception des futures biopuces. Cependant une étude expérimentale est nécessaire pour valider le modèle théorique, confronter les résultats de la simulation aux données mesurées et traiter les paramètres qui ne sont pas pris en considération dans la simulation. Par complémentarité à l'aspect numérique, la deuxième moitié de ce chapitre est dédiée à la description des différents montages qui sont à notre disposition et que nous avons utilisés durant la thèse. Ces montages vont nous permettre d'investiguer la réponse d'une biopuce structurée et d'estimer l'aptitude de la simulation à prédire ses propriétés plasmoniques.

### 2.2.1. Mono-capteur

Le banc expérimental « mono-capteur » est la première génération de capteur développée dans notre équipe pour favoriser la visualisation du phénomène de plasmons de surface. Ce dispositif est basé sur une interrogation angulaire qui consiste à mesurer la réflectivité à une longueur d'onde fixée.

Le principe de ce montage consiste à envoyer un faisceau lumineux collimaté et polarisé sur une zone de la puce puis de mesurer l'intensité lumineuse moyenne réfléchie. Pour cela, le « mono-capteur » est doté d'une source lumineuse (un laser). La lumière est ensuite collimatée puis polarisée. Ensuite le faisceau polarisé TM est dirigé vers le prisme en le traversant par une des faces, puis se réfléchit par la couche métallique avant de sortir par l'autre face du prisme. L'intensité du faisceau est finalement mesurée par une photodiode de mesure. Le balayage angulaire est assuré grâce à des platines de rotation permettant la rotation de l'ensemble biopuce/prisme. Le milieu ambiant consiste en un liquide mis en contact avec la puce par le système fluidique. Les variations des positions angulaires de minimum de réflectivité nous renseignent sur les changements d'indice du milieu aqueux externe suite à une injection d'une nouvelle solution.

### 2.2.1.1. Composants d'un montage mono-capteur

Nous décrivons dans cette partie les éléments opto-mécaniques d'un montage mono-capteur en interrogation angulaire qui est présenté à la figure 2. 28

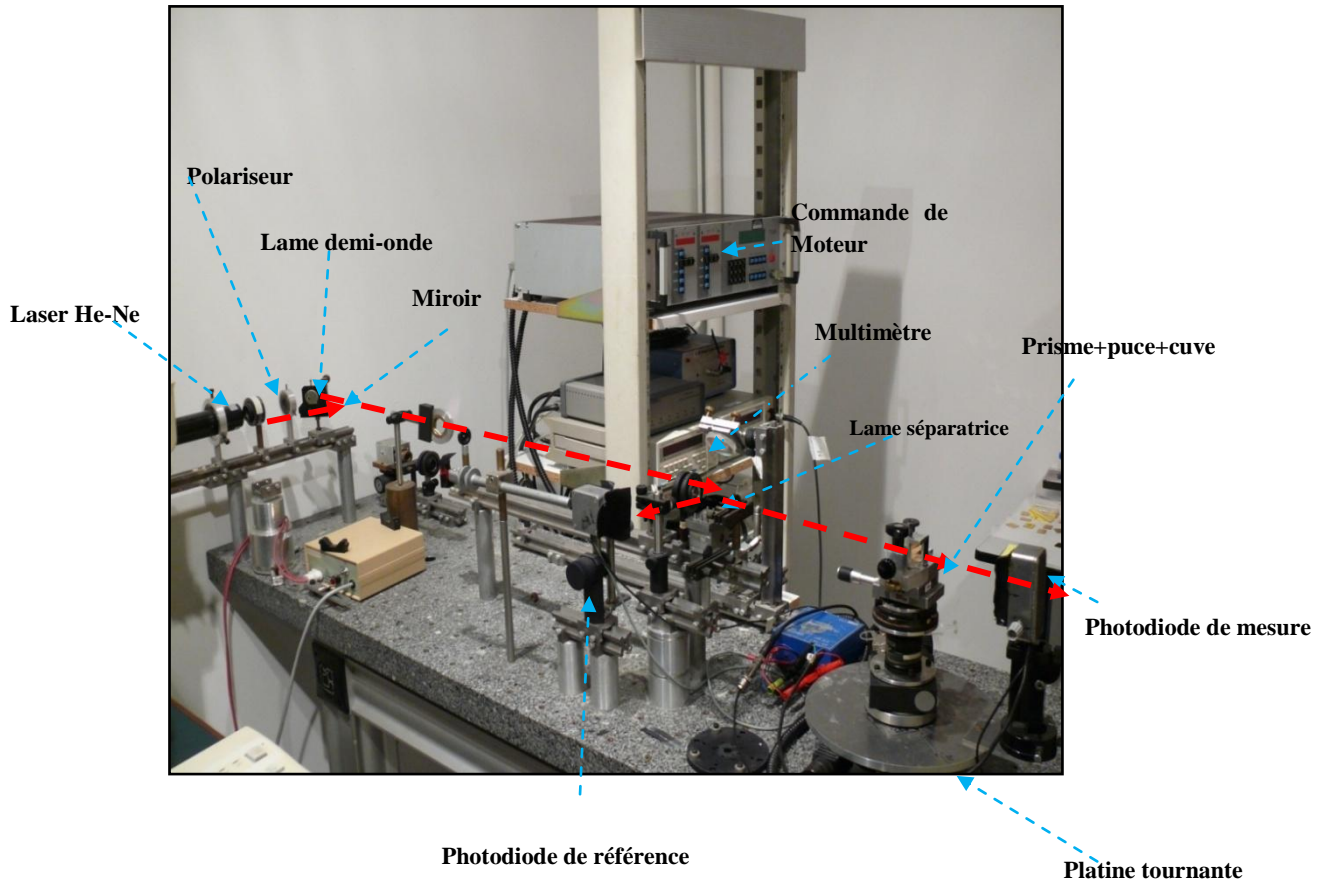


Figure 2. 28: Photo du montage d'un mono-capteur en interrogation angulaire

- **Une source lumineuse** : Laser Hélium-Néon qui émet un faisceau lumineux monochromatique à une longueur d'onde 633 nm.
- **Une lame demi-onde et un polariseur** : Système formé par une lame demi-onde et d'un polariseur. Ce système permet d'obtenir une onde électromagnétique polarisée transverse magnétique (TM), nécessaire pour l'observation du phénomène de plasmon de surface.
- **Une lame séparatrice** : le faisceau lumineux polarisé est séparé en deux parties. Après la traversée de la lame séparatrice: la première partie est réfléchiée sur la surface de la puce et ensuite envoyée sur une première photodiode de mesure. L'autre partie va être détectée par une photodiode de référence.
- **une puce** : constituée d'un substrat qui peut être une lame de microscope donc de type BK7 ou une lame en verre de type SF10, sur lequel est déposée une couche de 2 nm de chrome qui permet d'accrocher une couche métallique en or d'épaisseur proche de 50 nm. Nous choisissons d'évaporer l'or et le chrome sur le substrat et non pas directement sur le prisme pour des raisons de coût.

- **Configuration de Kretschmann** : Pour exciter les plasmons de surface nous devons nous placer dans la configuration Kretschmann. Dans la pratique nous plaquons le substrat sur un prisme de même type (même indice de réfraction). Pour réaliser ceci nous utilisons une huile de même indice que le substrat et le prisme afin d'éviter tout phénomène d'interférence.
- **Les capteurs optiques** : Deux photodiodes sont utilisées dans ce dispositif. La première permet de mesurer le faisceau réfléchi sur la surface de la puce. La deuxième est utilisée comme référence pour mesurer les fluctuations au cours du temps de l'intensité de la source et normaliser ainsi le signal mesuré par la première photodiode.
- **Platines tournantes** : Nous disposons de deux platines motorisées: la première platine porte le prisme et la deuxième porte la photodiode de mesure. Ces deux platines assurent la mesure du signal pour chaque angle sur une plage angulaire prédéfinie par l'utilisateur.
- **La fluidique** : le système fluidique (Figure 2. 29) permet au liquide (produit chimique, biologique) d'être en contact avec la surface d'or. Ce système est constitué d'une seringue qui permet d'injecter le liquide dans des tuyaux rigides et d'une cuve en téflon, plaquée contre la puce pour former la cellule de réaction. Ce système assure de cette manière la circulation du produit sur la surface de la puce au sein de la cellule d'interaction. L'avantage de l'utilisation du téflon est qu'il peut être comprimé légèrement lors de la pression de la puce contre la cuve.

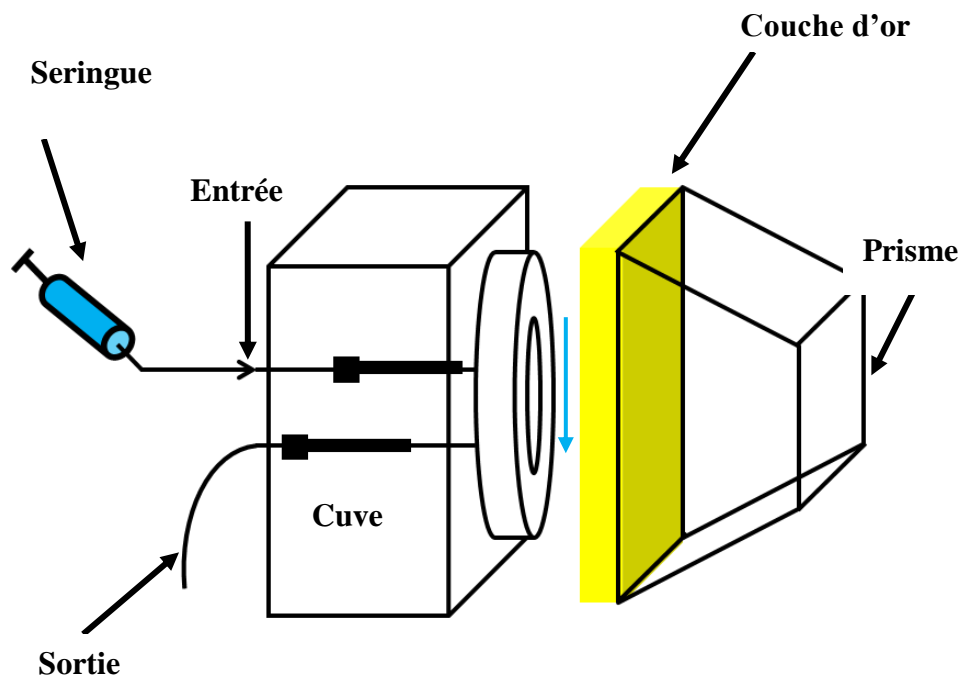


Figure 2. 29: Schéma représentatif du système fluidique, son emplacement ainsi que le sens d'écoulement du liquide.



#### 2.2.1.2. Protocole d'utilisation d'un mono-capteur

Le protocole suivant est utilisé:

- Vérifier la valeur à vide du rapport d'intensité des deux faisceaux (l'intensité mesurée par la photodiode de mesure/intensité mesurée par la photodiode de référence).
  - Fixer la cuve sur la platine tournante.
  - Plaquer l'ensemble (prisme, puce) contre la cuve.
  - Injecter à l'aide de la seringue un liquide (eau, glycérol, solution tampon, molécules ....) pour qu'il puisse être en contact avec le métal.
  - Enregistrer la courbe de réflectivité en fonction de l'angle d'incidence.
- L'acquisition se fait ensuite par l'intermédiaire d'un programme développé sur le logiciel LabView qui permet aussi de piloter la rotation des deux platines.

#### 2.2.1.3. Avantages et inconvénients d'un montage mono-capteur

Malgré l'utilité de ce montage, la mesure effectuée correspond à une valeur moyenne sur une zone de la puce possédant la même largeur que celle du faisceau lumineux incident. Nous ne pouvons pas faire donc de l'imagerie. Bien que ce montage ne réponde pas aux besoins médicaux qui nécessitent l'étude simultanée, en temps réel, de plusieurs interactions biomoléculaires, il demeure très utile pour la caractérisation des couches minces grâce à la divergence spectrale quasi-nulle du faisceau lumineux et la divergence angulaire négligeable. Étant donné que nous commandons des lots de puces chez le fournisseur (Schott), il est important de vérifier l'homogénéité des dépôts de la couche métallique sur quelques échantillons de ces puces. Ceci permet de caractériser une lame d'or, de remonter à ses propriétés optiques influant sur sa sensibilité, plus particulièrement l'indice de réfraction et l'épaisseur de la couche d'or et celle de la couche de chrome.

À titre d'exemple, nous avons effectué des mesures de réflectivité pour deux puces, basées sur un substrat en BK7, appartenant à deux lots différents (le premier lot est fourni par Schott et le deuxième est réalisé en évaporant de l'or). Théoriquement, il est usuel de calculer la réflectivité en fonction des angles d'incidence internes  $\theta$  pour un système multicouches, néanmoins expérimentalement la réflectivité est directement mesurée en fonction de l'angle externe  $\theta_{\text{ext}}$  sur le prisme. La relation entre les deux est donnée par l'équation suivante :

$$\sin \left( \theta_{\text{ext}} - \frac{A_p}{2} \right) = n_p \cos \left( \frac{A_p}{2} + \theta \right)$$

où  $A_p$  et  $n_p$  représentent respectivement l'angle au sommet et l'indice de réfraction du prisme.

Les courbes de réflectivité ainsi mesurées en fonction des angles externes permettent de visualiser la chute de réflectivité due au phénomène de résonance (Figure 2. 30).

Nous constatons une nette différence entre les chutes de réflectivité associées à chaque puce : cette chute est plus aigüe dans le cas de la puce 1, et plus évasée pour la puce 2.

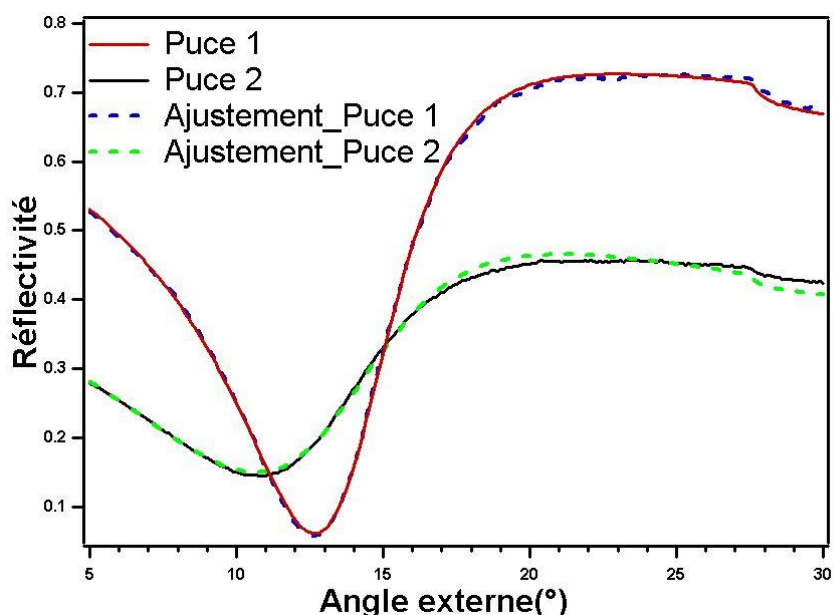


Figure 2. 30: Courbes de réflectivité en fonction des différents angles d'incidences externes mesurées par un mono-capteur à une longueur d'onde fixe 633 nm pour deux puces différentes. Chacune est composée d'un substrat en BK7 mais comporte des épaisseurs d'or et de chrome différentes. Un fit est utilisé pour remonter à ces épaisseurs inconnues.

Dans la figure (2. 30) nous présentons aussi les courbes de réflectivité théorique données par un modèle numérique d'ajustement basée sur la méthode de Rouard. L'ajustement permet de donner une approximation des épaisseurs d'or et de chrome. Les résultats de la comparaison entre les résultats expérimentaux et le modèle numérique d'ajustement permettent ainsi de dégager les caractéristiques de chacune de ces puces qui sont listées dans le tableau 1.

Sachant que nous avons demandé au fournisseur des lames de  $50 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$  d'or et de  $2 \text{ nm} \pm 0.5 \text{ nm}$  de chrome nous remarquons (tableau 1) que la première lame satisfait nos besoins bien qu'il y ait moins de chrome. Ceci est un avantage tant que l'or ne se détache pas du substrat. La deuxième lame comporte moins d'or et surtout beaucoup trop de chrome ce qui influe manifestement sur le profil de la courbe de réflectivité. Ceci engendre une dégradation de la sensibilité de la puce et limite son utilité.

	Puce 1	Puce 2
Épaisseur de l'or	51.45 nm	48.04 nm
Indice réelle de l'or	$n=0.218$	$n=0.220$
Indice imaginaire de l'or	$k=-3.55$	$k=-3.50$
Épaisseur de chrome	1.32 nm	8.80 nm
Indice réelle de chrome	$n=3.28$	$n=3.28$
Indice imaginaire de chrome	$k=-2.6$	$k=-2.6$
Angle de résonance	$12.4^\circ$	$10.9^\circ$

Tableau 1:Tableau résumant les caractéristiques en épaisseurs et indices obtenus par unajustement des courbes de réflectivité.

### 2.2.2. Imagerie par résonance de plasmons de surface : dispositif « angulo-spectral »

Le développement d'un dispositif d'imagerie basé sur la RPS est indispensable pour dépasser les limites des mono-capteurs et répondre à la nécessité de l'étude simultanée de plusieurs interactions biomoléculaires se déroulant à la surface d'une biopuce (Mannelli, Courtois et al. 2006). L'idée consiste donc à ajouter un module d'imagerie en temps réel de sorte que la réflectivité puisse être suivie sur tous les points de la surface d'or avec une résolution temporelle suffisante. Le système d'imagerie est donc potentiellement capable, en temps réel, de déterminer la réflectivité d'une zone spatiale définie par sa position spatiale ( $x$ ,  $y$ ) sur la puce en fonction de l'angle du faisceau incident  $\theta_i$  et la longueur d'onde incidente  $\lambda_i$ . La majorité des systèmes d'imagerie commercialisés opèrent par interrogation en réflectivité et excite les plasmons de surface à une longueur d'onde unique en utilisant des Diodes Électroluminescente (LED) @ 810 nm, possédant une largeur spectrale relativement large de l'ordre de 20 nm. Ces systèmes présentent l'avantage d'être peu encombrants et faciles à intégrer au banc. Ils permettent aussi de réaliser des mesures avec un excellent rapport signal sur bruit. Néanmoins, pour certaines applications biologiques, la qualité des données expérimentales peut être améliorée en effectuant des mesures à différents couples ( $\lambda_i$ ,  $\theta_i$ ), pour atteindre une sensibilité optimale pour chaque type d'interactions étudiée. Le dispositif développé dans notre groupe (Figure 2. 31) est conçu principalement pour répondre à ce besoin en combinant les deux types de balayages : angulaire et spectral. Ceci permet donc la mesure de la réflectivité d'une puce conventionnelle pour chaque angle et chaque longueur d'onde, en variant ces deux paramètres.

Pour des échantillons structurés, cet outil performant offre également la possibilité de caractériser simultanément la réponse des différentes zones structurées sur la surface d'une biopuce. Ceci permet non seulement de cartographier la nappe de réflectivité angulo-spectrale de chaque zone, et donc de caractériser ses propriétés plasmoniques, mais aussi de quantifier sa réponse en terme de sensibilité (à une couche biologique ou à la variation d'indice), tout en profitant d'une étude comparative, étant donné que la caractérisation des zones structurées se fait dans les mêmes conditions expérimentales.

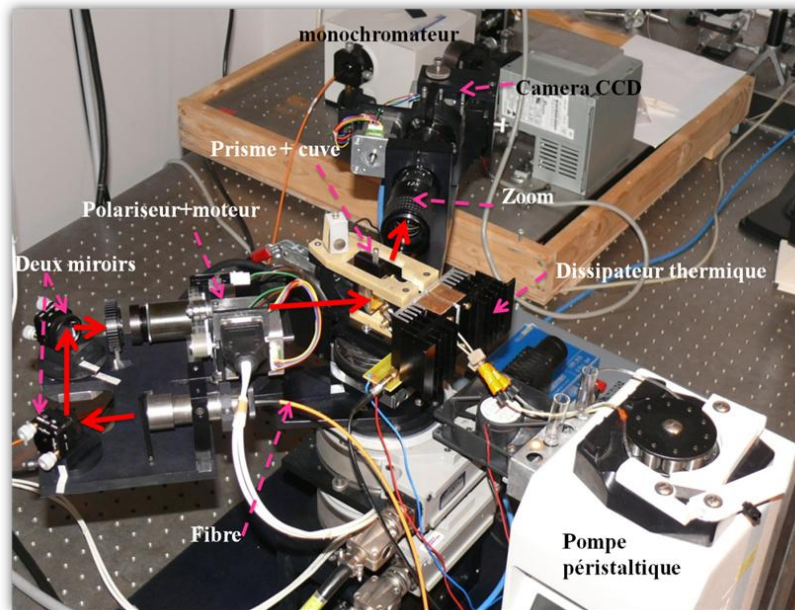


Figure 2. 31: Photo du banc d'imagerie par résonance de plasmons de surface (IRPS) basée sur une excitation angulo-spectrale.

Nous illustrons par un schéma simplifié (figure 2. 32) les différents composants du dispositif angulo-spectrale résumant son principe de fonctionnement. Ce dispositif est principalement basé sur l'utilisation d'une caméra CCD qui permet d'imager la surface de la puce. L'excitation se fait par un faisceau lumineux provenant d'une source blanche couplée à un monochromateur. L'ensemble assure la sélection d'une longueur d'onde. Le faisceau est ensuite acheminé à l'entrée du banc à travers une fibre de diamètre 200  $\mu\text{m}$ . Une fois le faisceau collimaté, le choix de la polarisation (en mode TM ou TE) se fait à l'aide d'un polariseur motorisé. Durant mon travail de thèse, ce dispositif était en perpétuel développement. En effet, comparé au dispositif de M. Nakkach (Nakkach et al. 2010) qui se base sur l'utilisation d'un miroir rotatif pour assurer le balayage angulaire, le dispositif actuel permet ce type de balayage grâce à deux bras rotatifs. Cette amélioration est utile, puisque elle permet d'agrandir la plage angulaire d'étude. D'autres améliorations comme celles qui consistent à remplacer l'ancien monochromateur par un nouveau plus performant ainsi que l'utilisation d'un nouveau collimateur ont contribué à améliorer la qualité de nos mesures.

Grâce à ces multiples fonctions, ce dispositif présente un grand intérêt puisqu'il offre la possibilité de caractériser en tout point une surface métallique, de l'ordre de  $1\text{cm}^2$ , une centaine de zones micro-nano-structurées. Les dimensions de ces zones étudiées dans ce travail ainsi que les résultats de la caractérisation sont détaillés dans le chapitre 4.

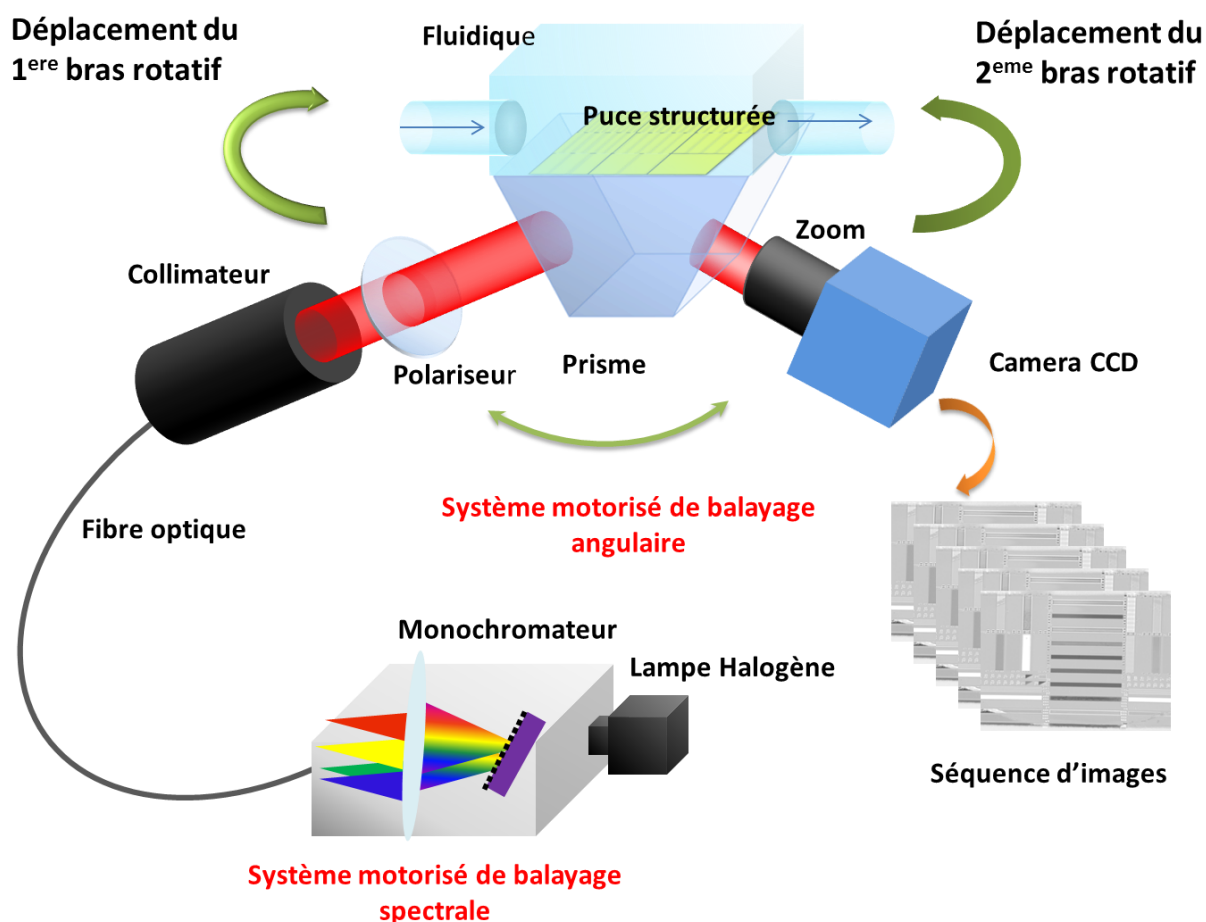


Figure 2. 32: Schéma simplifié résumant le principe de fonctionnement d'un dispositif angulo-spectrale.

#### 2.2.2.1. Composants du montage

Nous abordons en détail les différents composants du dispositif angulo-spectral qui sont présentés dans la figure (2. 32)

- **Source lumineuse**

La source lumineuse utilisée dans ce dispositif est une source halogène Philips de puissance 150 watts avec un spectre d'émission de type corps noir. Cette source est appariée à un monochromateur (iHR 320) de chez Horiba Jobin-Yvon. À l'intérieur du monochromateur, la lumière est collectée et collimatée, puis dirigée vers l'un des trois réseaux de diffraction permettant de couvrir une gamme spectrale de 150 nm à 1500 nm. L'orientation de ce réseau est pilotée par un ordinateur pour sélectionner la longueur d'onde à la sortie avec une vitesse de balayage de 160 nm/s. La lumière diffractée est ensuite renvoyée à la sortie par un miroir de focalisation. La finesse de la longueur d'onde choisie est réglée par un système de fente contrôlé qui permet d'obtenir un spectre avec une largeur à mi-hauteur comprise entre 1-13 nm. L'ensemble source et monochromateur offre ainsi la possibilité d'effectuer un balayage dans la bande spectrale prédéfinie par l'utilisateur.



Figure 2. 33: Monochromateur (iHR 320) fourni par Horiba Jobin-Yvon

- **Système de collimation**

Il est important d'avoir un faisceau correctement collimaté avec une très faible dispersion angulaire car la divergence angulaire va affecter la forme de la résonance plasmon mesurée. Nous avons donc utilisé un collimateur à miroir (Horiba Jobin-Yvon) permettant une collimation achromatique avec une divergence théorique de  $0.23^\circ$ .

- **Polariseur**

Nous utilisons un polariseur orientable entraîné par un moteur et piloté par le logiciel LabView. Il permet de sélectionner la polarisation du faisceau incident. Pour une biopuce conventionnelle (basée sur un film métallique plat), la polarisation (TM) favorise le phénomène de résonance de plasmons de surface. Bien que l'onde lumineuse en mode (TE) ne se couple pas avec les ondes plasmons, la polarisation (TE) est utile puisqu'elle sert comme référence en donnant l'intensité maximale d'éclairage. Le signal pris en mode (TM) sera normalisé par celui pris en mode (TE). L'acquisition en (TM) et en (TE) de chaque image de la surface à un angle et une longueur d'onde fixe permet de bien estimer les changements de réflectivité locale au niveau de la surface de la puce. Pour une biopuce structurée les deux modes (TM) et (TE) sont susceptibles d'affecter la réflectivité et d'engendrer des phénomènes de résonance d'où l'intérêt de cartographier la réponse d'une biopuce structurée pour les deux modes.

- **Capteur optique**

Le capteur utilisé est une camera CCD (Charged Coupled Device), 12 bits, non refroidie. La camera que nous utilisons est de marque PCO et de model Pixelfly. Elle est caractérisée par une résolution spatiale ( $1392 \times 1024$  pixels) ou chacun des pixels est un carré de  $6.45 \times 6.45 \mu\text{m}^2$ . Le champ de vue imagé du côté du pixel est du même ordre de grandeur que la longueur de propagation d'un plasmon. La sensibilité de détection de la caméra (bande spectrale) se situe entre 380 nm et 800 nm avec un maximum autour de 500 nm. La fréquence d'acquisition maximale de la caméra est de l'ordre de 50 images par seconde. Toutefois, la fréquence d'acquisition utilisée lors des expériences est de l'ordre de 4 images par seconde (temps d'intégration 250 ms). Pour chaque angle  $\theta_i$  et chaque longueur d'onde  $\lambda_i$  nous moyennons de 2 à 8 images ce qui représente un compromis entre un bon rapport signal/ bruit et un temps d'acquisition pas trop long (dérive thermique). D'autres améliorations sont en



cours (thèse en cours d'A. Sereda) au niveau de l'intégration d'une nouvelle caméra qui permettra de couvrir une large bande spectrale allant de 700 nm à 1700 nm.



Figure 2. 34: Camera CCD utilisée dans le dispositif de la IRPS

- **Fluidique**

L'usage d'un système fluidique (Figure 3. 35) permet d'acheminer un liquide (chimique, biologique) jusqu'à son contact avec la surface de la puce. Ce système est composé premièrement d'une cuve (feuille de millar) de 100  $\mu\text{m}$  de profondeur et 1 cm de diamètre et deuxièmement d'une pompe péristaltique qui permet de contrôler le débit du liquide injecté. Pendant nos expériences, nous gardons un débit constant de l'ordre de 35  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Les produits nécessaires à l'expérience sont préparés, au préalable, dans des tubes à essai. Le liquide est ensuite soit évacué dans un autre tube à essai soit rebouclé dans le premier tube.

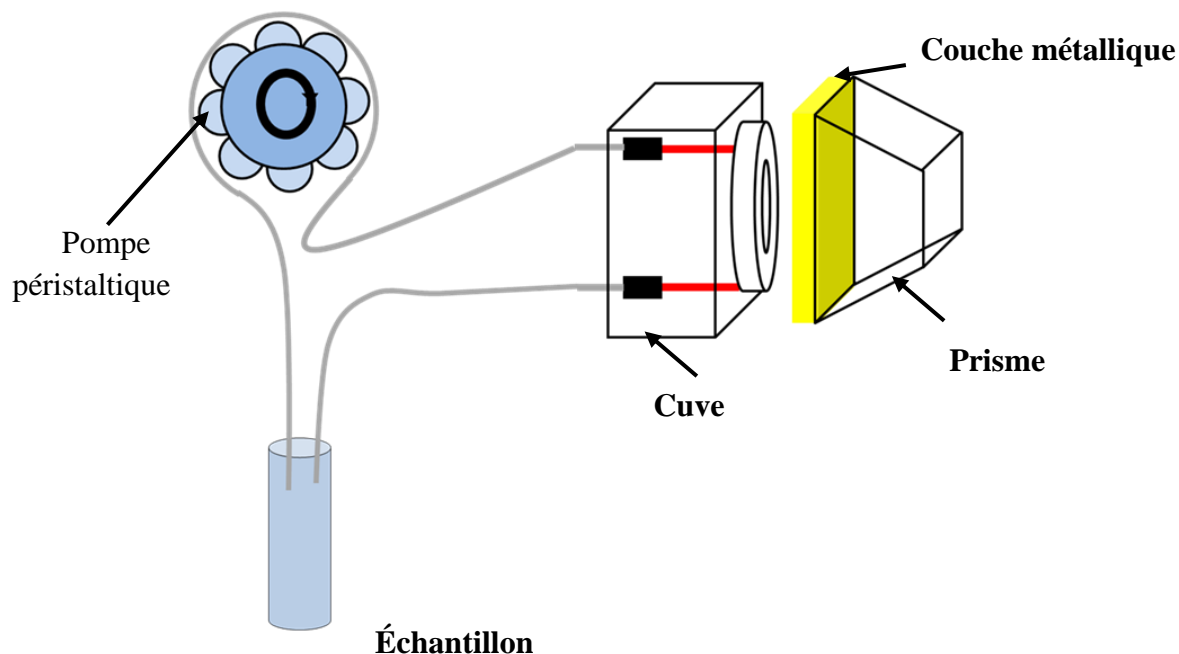


Figure 2. 35: Schéma du circuit fluidique

- **Système régulateur de la température**

L'indice de réfraction du liquide injecté dans cuve au cours du déroulement de l'expérience dépend fortement de la température. Ce facteur crucial peut provoquer une variation de réflectivité supplémentaire à nos mesures et bruite ainsi nos résultats. La température de la cuve est mesurée à l'aide d'une sonde de température mise dans la cuve. Selon la consigne de l'utilisateur, cette température peut être contrôlée et stabilisée par un programme de commande développé sur Labview qui commande le fonctionnement d'un Peltier relié à un dissipateur thermique à ailettes collé sur la cuve de fluide. L'énergie calorifique emmagasinée sur le dissipateur est ensuite évacuée à l'aide d'un ventilateur. La température de la cuve choisie au cours de mes expériences est de 22°C. L'isolement du banc par un capot aide à mieux assurer la stabilité de la température au sein de la cuve. Pour mieux l'expliquer, nous présentons dans la figure 2. 36 la mesure de la variation de température dans la cuve au cours du temps. La température est perturbée au début de l'expérience à cause du capot qui est ouvert puisqu'elle oscille de 0.15° autour de la valeur réelle. Ensuite elle se stabilise au cours du temps après la fermeture du capot. La valeur maximale de l'oscillation est aux alentours de 0.08°C.

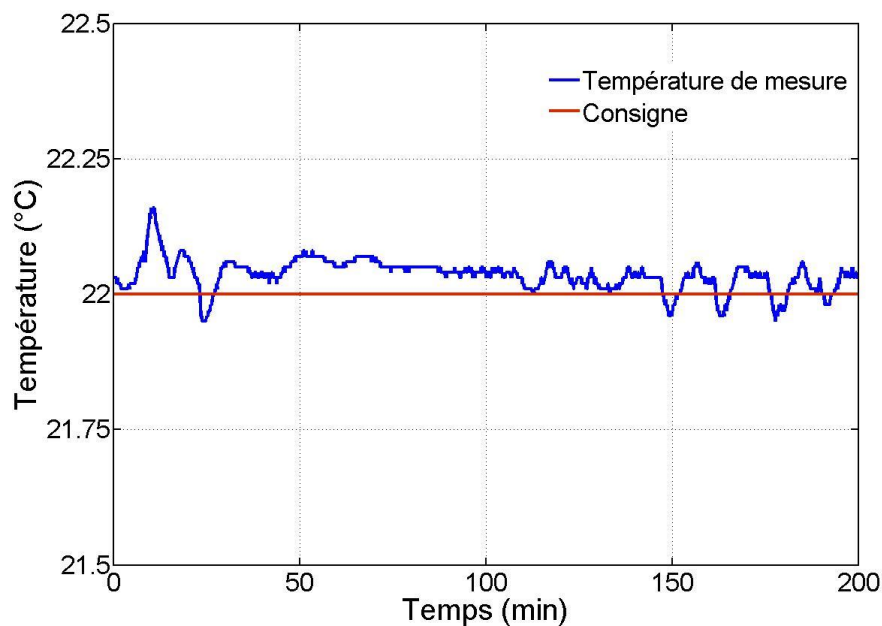


Figure 2. 36 : variation de la température dans la cuve.

- **Zoom :**

Le zoom est une composante intégrée dans la nouvelle version du dispositif. Il permet d'agrandir l'image de la surface de la puce jusqu'à  $\approx 12$  fois. Ceci présente un grand avantage dans le cas d'une puce intégrant différentes zones structurées. En effet l'ajustement du zoom permet en fonction de la taille et du nombre de zones structurées, d'ajuster au mieux le champ de vue de la caméra.



- **Deux bras rotatifs :**

Le premier bras mécanique rotatif, sur lequel est fixé l'ensemble du système d'éclairage (polariseur + deux miroirs), assure le balayage angulaire du faisceau incident avec une résolution angulaire de quelques centièmes de degré. Le deuxième bras, sur lequel nous fixons un Zoom et la caméra CCD, suit exactement le premier en tournant du même angle mais dans le sens opposé en assurant ainsi la réception du faisceau par la camera.

- **Programme de commande**

L'acquisition se fait par le biais d'un programme développé sur Labview qui permet aussi de piloter la rotation des deux bras mécaniques. Nous pouvons choisir les différents paramètres de l'expérience grâce au programme. En effet nous spécifions les valeurs limites de la nappe de réflectivité (la longueur d'onde de début, la longueur d'onde de fin, l'angle de début et l'angle de fin) en précisant le pas angulaire et spectral désiré. Ce programme permet aussi de choisir le nombre d'images moyennées et le temps d'intégration. En exécutant le programme, l'acquisition se fait de manière automatique.

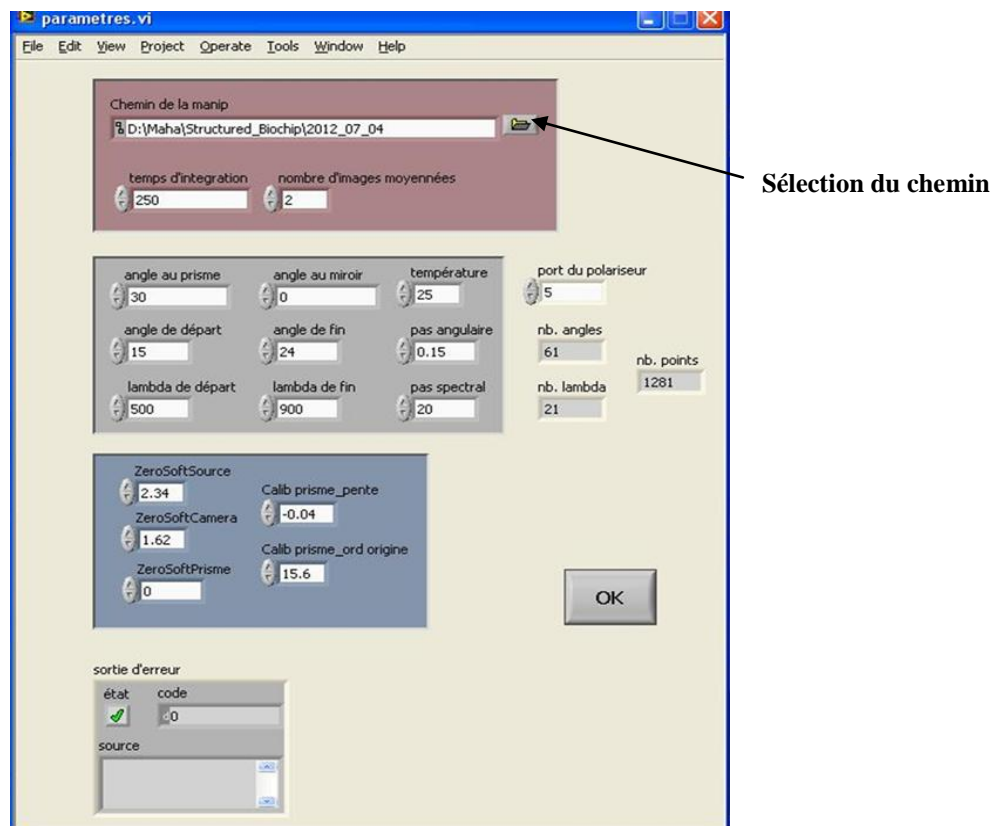


Figure 2. 37: Programme de commande permettant le choix des différents paramètres de l'expérience.

L'exécution du programme suit les étapes suivantes :

- Positionnement des bras mécaniques sur l'angle de début.
- Positionnement du monochromateur sur la longueur d'onde de début.
- Acquisition d'une image de fond (les bras mécaniques ne sont pas en phase)
- Pour un angle fixe et une longueur d'onde fixe, la caméra prend une image en mode (TE) comme référence et ensuite en mode (TM).
- Balayage des longueurs d'onde suivant la bande spectrale déjà précisée par l'utilisateur.
- Passage à l'angle suivant et nouveau balayage des longueurs d'ondes.
- Stockage des images dans les sous répertoires (TM) et (TE)

Une fois que les images sont capturées, il est possible, dans le cas d'une biopuce conventionnelle d'extraire directement depuis l'interface du programme les valeurs de réflectivité associées à une zone d'intérêt de la puce sur lesquelles le moyennage spatial va se faire. Dans le cas d'une biopuce intégrant des centaines de zones structurées, un post-traitement sur Matlab est plus pratique à cause de la grande quantité des données expérimentales.

Afin d'illustrer le fonctionnement de notre dispositif, nous présentons (Figure2. 38-A) une nappe de réflectivité angulo-spectrale mesurée pour une puce composée d'un substrat en SF10, 3 nm de chrome et 50 nm d'or. Le liquide injecté est l'eau. La plage angulaire s'étendant de  $51^\circ$  jusqu'à  $60^\circ$  par pas de  $0.15^\circ$  et la bande spectrale de 500 nm à 900 nm par pas de 20 nm. Notons bien que la nappe de réflectivité tracée (Figure2. 38-A) correspond à la nappe de réflectivité en mode TM normalisée par la courbe de réflectivité en mode TE. L'acquisition d'une telle nappe prend 3h : 45 mn. La nappe de réflectivité mesurée est ensuite comparée avec celle calculée par la méthode de Rouard, en tenant compte de la même composition de la puce (substrat SF10// 50 nm d'or / 3 nm de chrome et eau), ainsi que la même plage angulaire et spectrale. La comparaison montre une correspondance entre le résultat expérimental et le résultat prédictif de la simulation. Néanmoins pour des longueurs d'onde supérieure à 850 nm la chute de réflectivité due au phénomène de résonance de plasmons de surface est moins prononcée comparée à la prédiction de la simulation. Ceci est essentiellement engendré par notre polariseur et notre caméra qui sont moins efficace pour ces longueurs d'onde. C'est la raison pour laquelle nous effectuons nos mesures (résultats montrées dans le chapitre 3) en nous limitant à l'intervalle 500 nm-600nm.

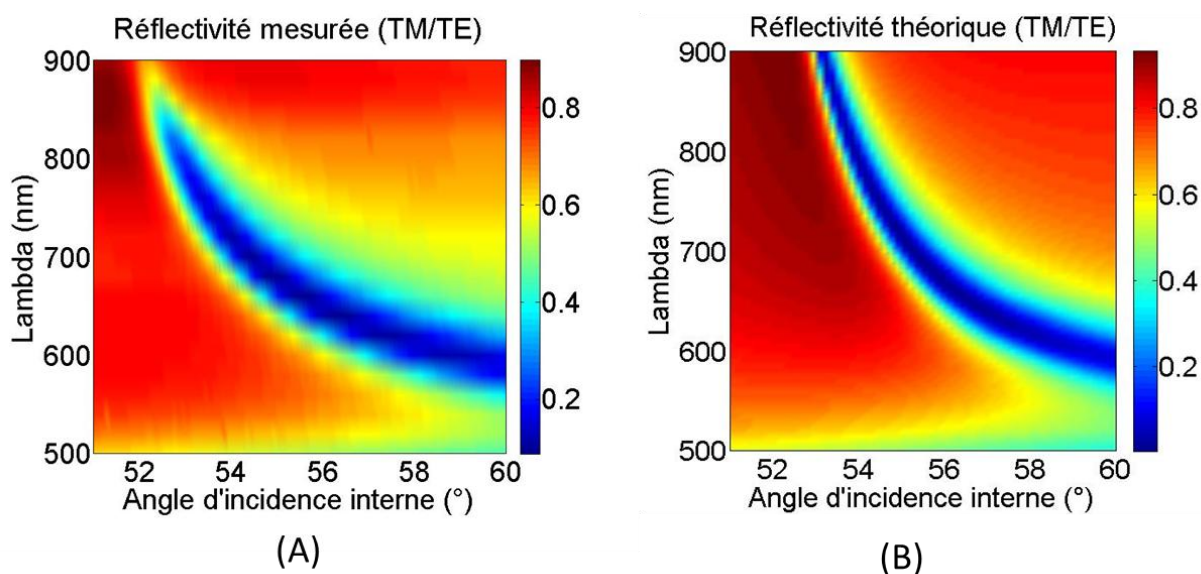


Figure 2. 38: (A) Nappe de réflectivité mesurée par le dispositif d'imagerie angulo-spectrale correspondant à la puce basée sur un prisme SF10 / 50 nm d'or / 3 nm de chrome et eau. (B) Nappe de réflectivité calculée par la méthode de Rouard.

### Conclusion et perspectives

Nous avons décrit dans ce chapitre le principe de fonctionnement d'un programme basé sur la méthode de Rouard étendu permettant de simuler la réflectivité et la réponse en terme de sensibilités d'une biopuce conventionnelle assimilable à un système multicouche.

En revanche, pour étudier la réponse d'une biopuce structurée assimilable à un réseau périodique, nous avons adapté la méthode modale hybride qui est plus appropriée à ce genre de problématique.

Nous avons ensuite présenté le dispositif expérimental « mono-capteur » permettant de visualiser le plasmon de surface et estimer les paramètres qui caractérisent les différentes couches de la puce.

Finalement nous avons expliqué le principe de fonctionnement du dispositif expérimental « angulo-spectral » qui repose sur l'utilisation d'une caméra CCD et permet de cartographier la nappe de réflectivité d'une biopuce structurée.

L'adaptation du code basé sur la méthode modale hybride à des structures 3D ainsi qu'une extension de la plage spectrale du dispositif expérimentale sont des perspectives importantes à envisager.

## Chapitre 3 : Étude de la réponse d'une biopuce 2D structurée

*Dans ce chapitre, nous étudions numériquement et expérimentalement le potentiel de détection d'interactions biomoléculaires d'une biopuce à lecture plasmonique basée sur la configuration de Kretschmann et intégrant une surface métallique 2D structurée. Nous entamons ce chapitre par l'introduction de la géométrie de la biopuce étudiée et la définition de ses paramètres caractéristiques. Grâce à une étude numérique effectuée avec la méthode hybride, nous présentons une cartographie exhaustive du potentiel de détection d'une couche biologique, en variant les paramètres de la structuration liés aux dimensions du réseau, en particulier les largeurs et les épaisseurs des structures. La réponse de la biopuce à la détection de biomolécules est ensuite interprétée théoriquement par les différents phénomènes plasmoniques notamment les « points chauds » et les bandes plasmoniques interdites. Nos calculs confirment l'importance de l'exploitation du confinement de la lumière à travers la structuration sub-longueur d'onde des surfaces plasmoniques, ceci offre la possibilité non seulement d'optimiser les paramètres géométriques qui permettent l'amélioration de la sensibilité vis-à-vis de la réponse d'une biopuce conventionnelle, mais aussi de mettre en évidence la transition entre le régime où les plasmons propagatifs (PP) dominant vers le régime où les plasmons localisés (PSL) dominant. Afin de concrétiser ces résultats numériques, nous avons conçu une biopuce intégrant à sa surface plusieurs zones avec des dimensions de structuration variables. L'échantillon est élaboré par lithographie à faisceau d'électrons focalisés. La caractérisation de la réflectivité et de la sensibilité à une couche biologique se fait par le biais du banc d'Imagerie de Résonance de Plasmons de Surface. Les résultats présentés ici contribuent à une meilleure compréhension des résonances plasmons dans les réseaux métalliques. Les résultats de simulation, l'interprétation théorique ainsi que les données expérimentales aident à acquérir les connaissances nécessaires pour le développement d'un outil d'analyse biomoléculaire efficace basé sur les réseaux métalliques. Ce travail a fait l'objet d'un article soumis en 2013 ainsi que de plusieurs conférences nationales et internationales.*

## Introduction

Nous étudions dans ce chapitre le potentiel de détection des interactions biomoléculaires d'une nouvelle génération de biopuces à lecture plasmonique basée sur la configuration de Kretschmann et intégrant une surface structurée assimilable à un réseau 1D. Des simulations numériques ont été réalisées en utilisant le modèle présenté dans le chapitre précédent qui est basé sur l'hybridation des deux méthodes classiques, la méthode modale de Fourier et la méthode des éléments finis. Ce nouvel outil numérique est suffisamment rapide pour permettre une simulation exhaustive du potentiel de détection de ces nouvelles biopuces en faisant varier plusieurs paramètres géométriques liés aux dimensions du réseau, en balayant une gamme du domaine nanométrique au domaine micrométrique. Nous cartographions et quantifions ainsi les réponses en terme de sensibilité (% / nm) des surfaces structurées suite à l'accrochage des biomolécules, en les comparant avec la réponse d'une biopuce conventionnelle. Les différentes combinaisons des paramètres de structuration permettent aussi de mettre l'accent sur la corrélation entre la sensibilité et la réponse optique de la puce (réflectivité, champs électrique, vecteur de Poynting). Cette étude exhaustive permet de déterminer la frontière entre le régime où le mode plasmonique propagatif domine et le régime où le mode localisé domine. Ceci est utile pour optimiser les différents paramètres qui caractérisent les structures à la surface d'une biopuce structurée. La première partie de ce chapitre est donc consacrée à la modélisation numérique d'une biopuce conventionnelle dans le but d'optimiser sa réponse à une longueur d'onde d'excitation à 850 nm, cette réponse sera ensuite prise comme référence. Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous décrivons la nouvelle biopuce structurée et nous définissons ses différents paramètres de structuration pour cartographier finalement son potentiel de détection avec une intention particulière portée, dans un premier temps, sur le régime micrométrique et dans un deuxième temps sur le régime nanométrique. Pour valider notre approche théorique nous étudions expérimentalement, dans la troisième partie, un échantillon d'une puce structurée qui intègre plusieurs réseaux avec différentes dimensions variant du micromètre vers le nanomètre.

### 3.1. Étude numérique de la réponse d'une biopuce 2D structurée

#### 3.1.1. Optimisation de la réponse d'une biopuce conventionnelle

Dans le but de fournir une base de comparaison de la réponse des biopuces 2D structurées, nous entamons ce chapitre par l'optimisation de la réponse d'une biopuce conventionnelle basée sur la configuration de Kretschmann et opérant à une longueur d'onde  $\lambda = 850$  nm. Nous considérons que cette biopuce est composée d'un substrat SF10 et d'un film métallique plan en or. En s'appuyant sur la méthode de Rouard, le calcul de la réflectivité angulaire, en mode TM, ensuite normalisée par la réflectivité en mode TE, permet d'observer le phénomène de résonance de surface qui se traduit par la chute de réflectivité (TM/TE) pour l'angle de résonance  $\theta_{\text{res}} = 53.56^\circ$ , comme le montre la courbe bleue de la figure 3. 1. Nous rappelons qu'une variation d'indice de réfraction à la surface métallique, due à l'accrochage des biomolécules, entraîne une modification de la condition de couplage et provoque ainsi un

déplacement de la courbe de réflectivité, comme le montre la courbe rouge de la figure 3. 1. Dans nos calculs l'adsorption des brins d'ADN forme une couche biologique, modélisée par un milieu homogène avec un indice de réfraction de 1.48 et une épaisseur de 1 nm. Cela conduit dans le cas d'une couche métallique d'épaisseur 56.7 nm à un décalage angulaire de la courbe plasmon  $\Delta\theta = 0.04^\circ$ . Contrairement à plusieurs études se focalisant sur la technique de l'interrogation angulaire, permettant de suivre le décalage de l'angle de résonance, nous avons choisi d'étudier la technique de l'interrogation en réflectivité, se basant sur le suivi de l'évolution de la réflectivité à un angle fixe et une longueur d'onde fixe, qui est plus compatible avec un système de détection en temps réel. Pour cette raison, nous nous intéressons au changement de réflectivité donné par la différence entre la courbe de réflectivité avec et sans la couche biologique. À partir de la Figure 3. 1 il vient que la différence de réflectivité atteint un maximum  $\Delta R_{\text{max}} (\%) = 10.87 @ 53.43^\circ$ . Nous avons choisi de définir la sensibilité à l'adsorption d'une couche biologique à partir de l'expression suivante :

$$\Delta R (\% / \text{nm}) = | \Delta R_{\text{max}} | / \Delta e \quad (\text{III.1})$$

où  $\Delta R_{\text{max}}$  est la variation maximale de la réflectivité et  $\Delta e$  est l'épaisseur de la couche biologique. De la même façon, la sensibilité, due à une variation de l'indice de réfraction du milieu diélectrique couvrant, est définie de la manière suivante:

$$\Delta R (\% / \text{RIU}) = | \Delta R_{\text{max}} | / \Delta n \quad (\text{III.2})$$

Où  $\Delta R_{\text{max}}$  est le maximum de variation de la réflectivité et  $\Delta n$  est un saut d'indice dû à une variation d'indice de réfraction du milieu diélectrique en (RIU). La sensibilité à un saut d'indice  $\Delta n = 5 \times 10^{-4}$  RIU pour une biopuce conventionnelle est estimée à  $\Delta R = 16483 (\%/\text{RIU})$ .

Dans ce travail, nous adopterons ces deux définitions de la sensibilité pour évaluer le potentiel de détection des biocapteurs structurés et non structurés.



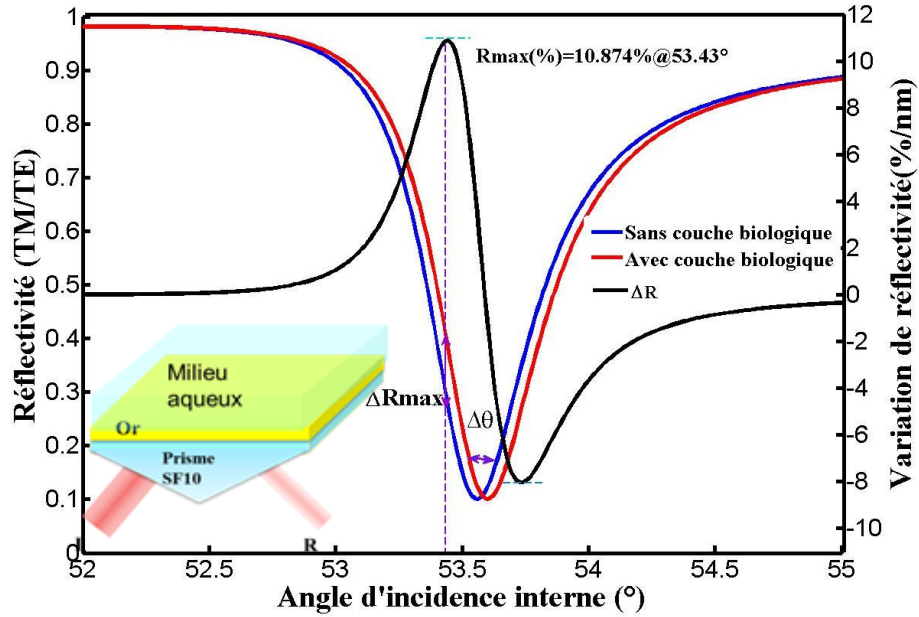


Figure 3. 1: Réflectivité normalisée (TM / TE) calculée pour une biopuce classique à RPS basée sur un film métallique mince avec une épaisseur de 56.7 nm (courbe bleue) opérant à une longueur d'onde de 850 nm. L'adsorption d'une couche biologique engendre un décalage angulaire  $\Delta\theta$  de l'angle de résonance et induit aussi une variation de réflectivité  $\Delta R$ . Le maximum de cette variation de réflectivité est notée  $\Delta R_{max}$ .

### 3.1.2. Description de la biopuce 2D étudiée et définitions des différents paramètres des structures

Les biopuces 2D nano-micro structurées étudiées sont basées sur la configuration de Kretschmann. Chaque biopuce est composée d'un substrat SF10 sur lequel nous considérons un film continu uniforme d'or d'une épaisseur  $h_1 = 64.2$  nm. Ce film intègre des structures formées de rectangles infinis 2D, périodiquement arrangés, avec une profondeur  $\Delta h = 15$  nm, sous forme d'un réseau lamellaire de telle manière que l'épaisseur du film d'or inférieure soit  $h_2 = 49.2$  nm ainsi que présenté dans la figure 3. 2. Au cours de notre étude, les valeurs  $h_1$ ,  $h_2$  et  $\Delta h$  sont fixées, et leur choix sera justifié par la suite. Nous désignons par  $w_1$  la largeur des pistes (la surface supérieure de la structure) et par  $w_2$  l'espacement entre les structures (largeur des surfaces inférieures des rainures). La somme de ces deux dimensions  $w_1$  et  $w_2$  définit la période du réseau  $\Lambda$ . L'impact de la variation de  $w_1$ ,  $w_2$  et  $\Lambda$  sera mis en évidence dans ce chapitre. Nous supposons que la surface métallique est en contact avec une solution aqueuse (eau) considérée comme un milieu semi-infini. Nous considérons aussi que la biopuce est éclairée par une onde plane monochromatique avec une longueur d'onde  $\lambda = 850$  nm. En arrivant à la surface de la puce, l'onde incidente est ensuite réfléchiée par la surface d'or en excitant les ondes plasmons de surface se propageant à la surface du réseau.

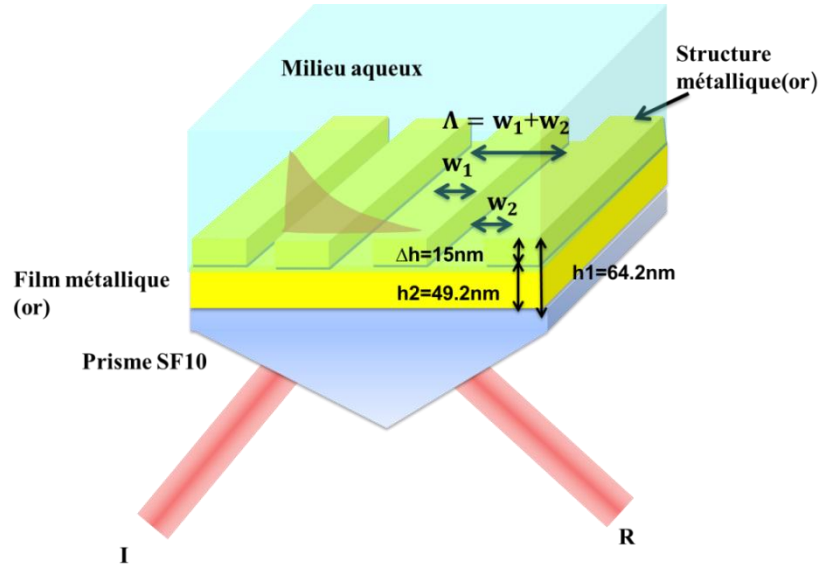


Figure 3. 2: Schématisation tridimensionnelle d'une biopuce à lecture plasmonique basée sur la configuration Kretschmann intégrant une surface texturée qui contient des structures rectangulaires. Les structures sont caractérisées par une hauteur supérieure  $h_1 = 64.2$  nm et une hauteur inférieure  $h_2 = 49.2$  nm ainsi qu'une la largeur de la face supérieure  $w_1$  de la structure et par  $w_2$  l'espacement entre les structures. La lumière incidente est désignée par «I» tandis que la lumière réfléchie est notée par «R».

#### 3.1.2.1. Largeur des structures $w_1$ et espacement entre les structures $w_2$

Les deux paramètres du réseau  $w_1$  et  $w_2$  sont variables. Ils peuvent être exprimés en fonction de la longueur d'onde plasmon de surface  $\lambda_{SP}$  de la manière suivante :  $w_1 = K_1 \lambda_{SP}$  et  $w_2 = K_2 \lambda_{SP}$ . Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi de faire varier ces valeurs normalisées de  $K_1$  et  $K_2$  de 0.01 à 3 avec un pas de 0.005, représentant respectivement la largeur normalisée de la surface supérieure de la structure et l'espacement normalisée entre les structures. De la même manière, nous pouvons exprimer la périodicité de la structure en fonction de la longueur d'onde plasmon :  $\Lambda = K \lambda_{SP}$ . La valeur de  $K$  traduit la largeur normalisée de la période de la structuration avec  $K = K_1 + K_2$ .

Pour un film métallique uniforme, nous pouvons calculer la longueur d'onde plasmon de surface  $\lambda_{SP}$  qui est donnée par l'expression suivante :

$$\lambda_{SP} = \frac{\lambda}{n_p \sin \theta_{res}} \quad (III.3)$$

$\lambda$  étant la longueur d'onde incidente,  $\theta_{res}$  est l'angle de résonance dans le spectre angulaire de réflectivité et  $n_p$  est l'indice de réfraction du prisme.

Afin de prédire la dépendance de l'angle de résonance en fonction de la variation d'épaisseur du film métallique plat, dans la configuration d'une biopuce conventionnelle les angles de résonance extraits à partir des différentes courbes de réflectivité associées à différentes épaisseurs du film métallique variant de 30 nm à 80 nm avec un pas de 5 nm. Les calculs sont effectués (Figure 3. 3), avec la méthode de Rouard. Graphiquement, la valeur de l'angle de résonance varie pour des épaisseurs du film d'or inférieures à 40 nm et presque constante  $\theta_{res} = 53.4^\circ$  pour une variation de l'épaisseur entre 50 nm et 80 nm.



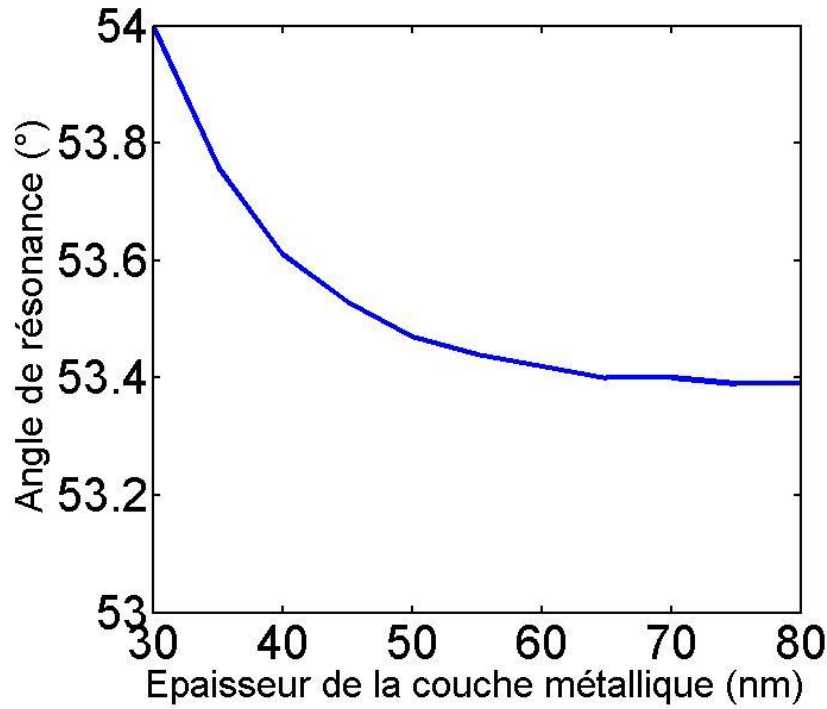


Figure 3. 3: Calcul des angles de résonance en fonction de l'épaisseur d'or, à une longueur d'onde incidente d'excitation 850 nm pour une biopuce conventionnelle constituée d'un prisme SF10 et une surface métallique plane (or) avec une épaisseur qui varie de 30 nm à 80 nm avec un pas de 5 nm.

Ensuite, à partir du calcul des angles de résonance, nous pouvons déduire la valeur de la longueur d'onde plasmon de surface  $\lambda_{sp}$  pour différentes épaisseurs du film métallique (Figure 3. 4). Similairement au comportement de l'angle de résonance, la valeur de  $\lambda_{sp}$  atteint un plateau pour des épaisseurs du film d'or supérieures à 40 nm. La longueur d'onde plasmon de surface  $\lambda_{sp}$  est presque constante ( $\lambda_{sp} = 618.7$  nm) avec une variation de l'ordre de 0.7 % pour un intervalle de 30 nm à 70 nm. Pour cette raison, nous avons considéré une valeur unique de longueur d'onde plasmon  $\lambda_{sp} = 618.7$  nm.

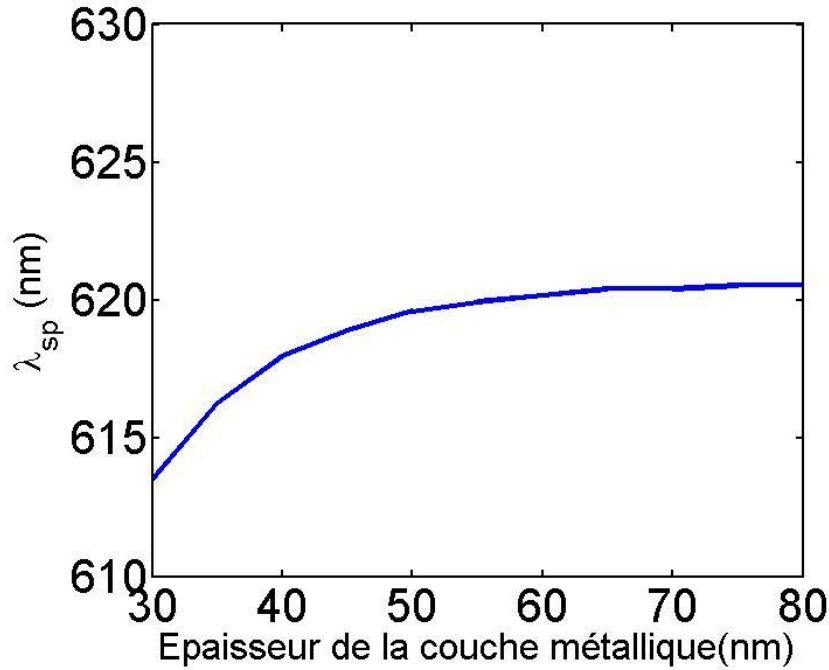


Figure 3. 4: Calcul des longueurs d'onde plasmons en fonction de l'épaisseur d'or nm à une longueur d'onde incidente d'excitation 850 nm, pour une biopuce conventionnelle constituée d'un prisme SF10 et une surface métallique plane (or) avec une épaisseur qui varie de 30 nm à 80 nm.

#### 3.1.2.2. Épaisseur des structures $h_1$ et $h_2$

Dans le but de justifier notre choix pour les valeurs des hauteurs  $h_1$  et  $h_2$  qui définissent la structure métallique, nous proposons de reprendre la courbe de sensibilité d'une biopuce conventionnelle en fonction de l'épaisseur de la couche métallique (Figure 3. 5) pour une longueur d'onde incidente 850 nm. Le choix des valeurs  $h_1$  et  $h_2$  a été effectué de manière à ce que ces épaisseurs présentent la même valeur de sensibilité. Pour une structure de hauteur  $\Delta h$ , que nous avons fixé à 15 nm, les deux épaisseurs  $h_1 = 64.2$  nm et  $h_2 = 49.2$  nm vérifient cette condition, avec une sensibilité  $\Delta R \text{ (\% / nm)} = 9.72$ .

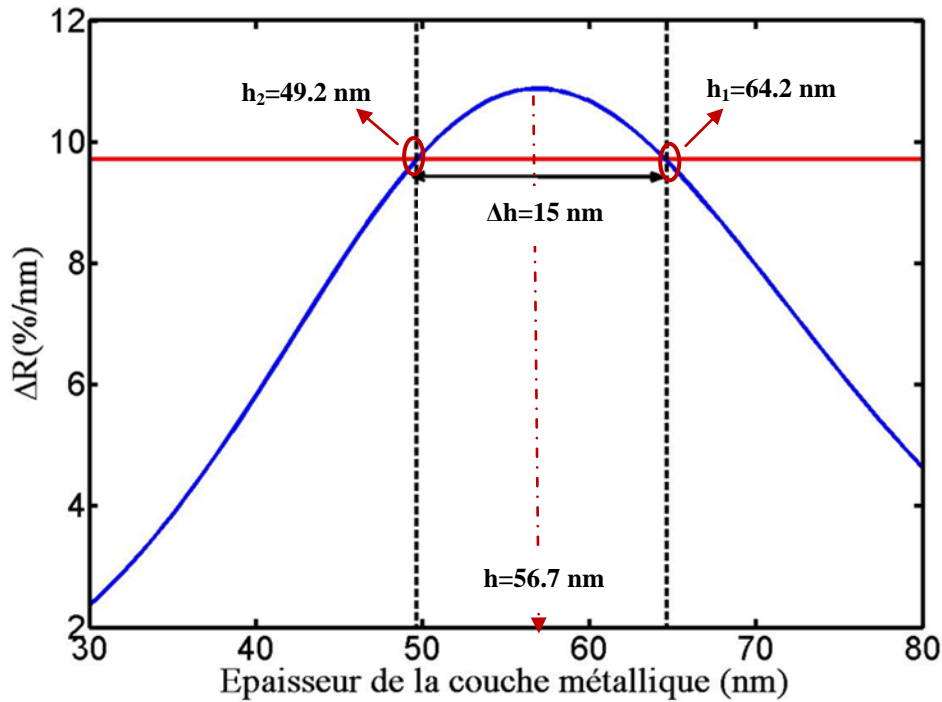
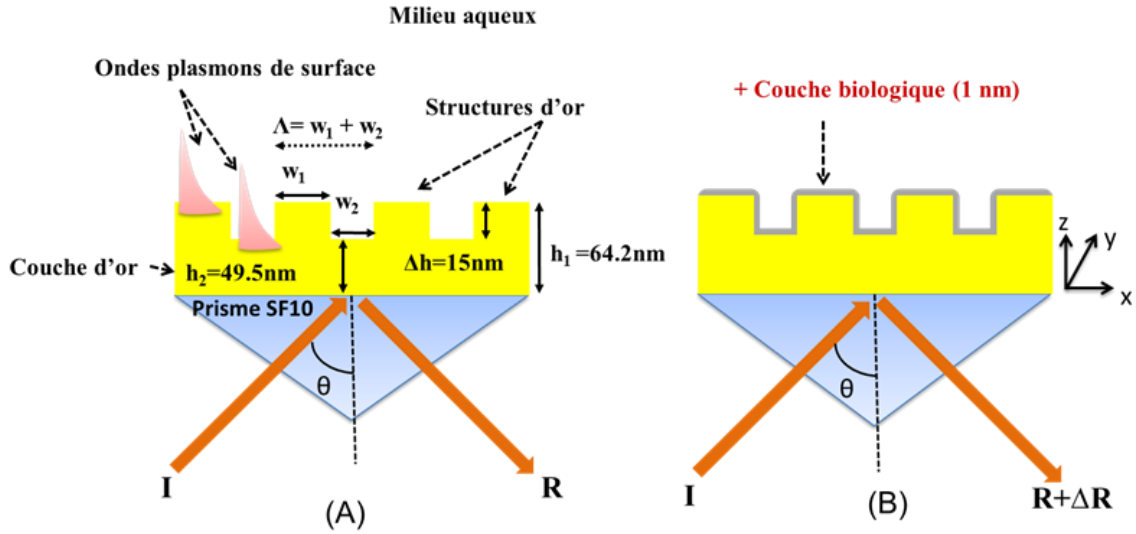


Figure 3. 5: Sensibilité à une couche biologique, calculée pour une longueur d'onde incidente 850 nm et pour une configuration basée sur un prisme SF10 et une couche métallique. La sensibilité est tracée en fonction de l'épaisseur du film d'or. Le maximum de sensibilité est 10.87 ( $\%/nm$ ) ce qui correspond à une épaisseur d'or 56.7 nm. Une sensibilité constante de 9.72 ( $\%/nm$ ) coïncide pour deux épaisseurs d'or différentes 49.2 nm et 64.2 nm.

### 3.1.3. Cartographie du potentiel de détection d'une biopuce 2D structurée

#### 3.1.3.1. Description globale de la carte de sensibilité

Similairement au calcul de la sensibilité d'une biopuce conventionnelle, la valeur de la sensibilité  $\Delta R$  ( $\% / nm$ ) d'une puce structurée, pour chaque paire de valeur  $w_1$  et  $w_2$ , est extraite à partir de la différence entre les deux courbes de réflectivité: la première courbe de réflectivité qui correspond à une biopuce structurée nue (Figure 3. 6, configuration A) et la deuxième courbe qui correspond à une biopuce structurée après l'adsorption d'une couche biomoléculaire (Figure 3. 6, configuration B). Chaque courbe de réflectivité angulaire a été calculée avec une résolution angulaire de  $0.01^\circ$ .



**Figure 3. 6:** (A) Biopuce à RPS intégrant une surface structurée. (B) Même structure mais en ajoutant une couche biologique de 1 nm d'épaisseur avec un indice de réfraction de 1.48.

La figure 3. 7 présente la cartographie de la sensibilité obtenue à partir des simulations, pour  $K_1$  et  $K_2$  variable de 0.01 à 3 avec un pas de 0.005, i.e.  $w_1$  et  $w_2$  variant de 6.18 nm à 1856 nm. La nappe de sensibilité comporte 357604 points de calculs, avec un temps de calcul de 20 secondes pour chaque point. Une sensibilité moyenne dominante autour de 9.7 (% / nm) est observée sur la plus grande part de la carte, sauf pour les petites valeurs de  $K_1$  et  $K_2$ . Cette exception sera discutée plus tard. La sensibilité moyenne est comparable à celle calculée pour une puce conventionnelle d'épaisseur  $h_1 = 64.2 \text{ nm}$  ou bien  $h_2 = 49.2 \text{ nm}$ . Cela est dû au fait que cette étude exploite les ondes plasmons déjà excitées à travers la configuration de Kretschmann et vise seulement à perturber, via le réseau métallique, leur propagation. En effet, dans le cas où la hauteur du réseau  $\Delta h$  est très inférieure à la valeur de la longueur d'onde  $\lambda_{SP}$ , la structuration ne fait que perturber la propagation du plasmon qui est quasi-propagatif. Le réseau n'est donc pas utilisé, dans ce cadre, pour exciter et coupler les ondes incidentes aux plasmons contrairement à plusieurs études antérieures (Tan et al. 1999) (Hooper et al. 2002) qui s'appuient sur le couplage des ondes plasmons via le réseau métallique, sans avoir recours à la configuration de Kretschmann.

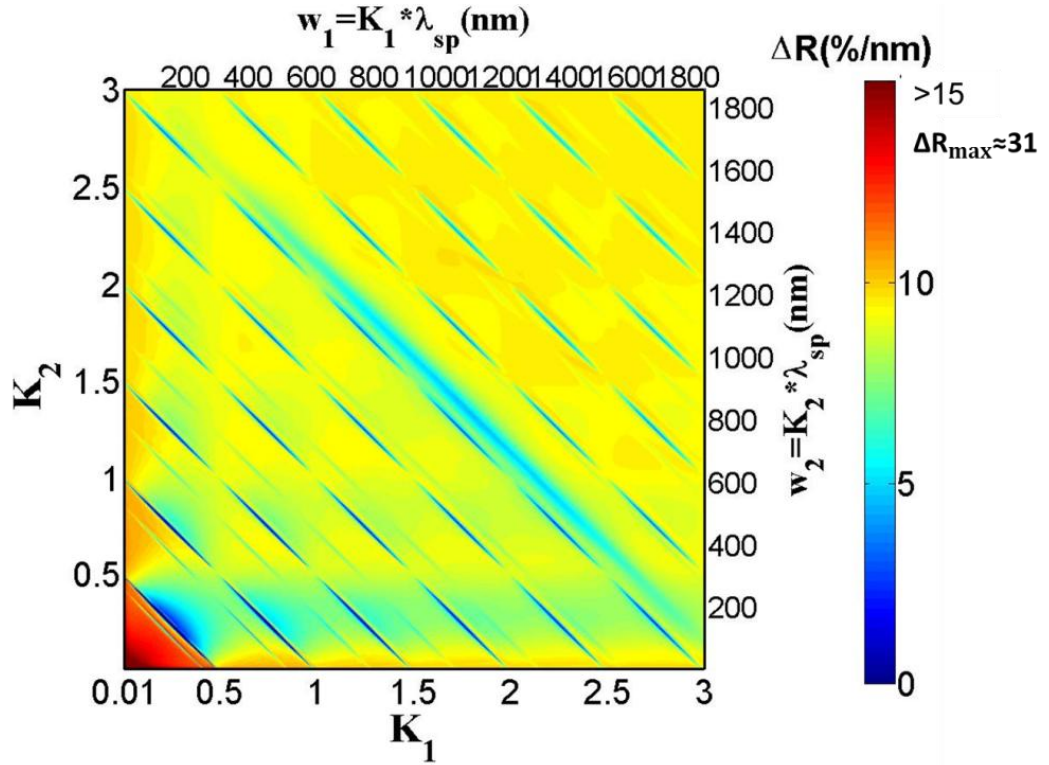


Figure 3. 7: Cartographie de la sensibilité  $\Delta R$  (% / nm) de la surface nano- micro-structurée pour  $K_1$  et  $K_2$  variant de 0.01 à 3 avec un pas de 0.005. Ceci correspond à la largeur de la surface supérieure de la structure  $w_1$  et l'espacement entre les structures  $w_2$  variant de 6.18 nm à 1856.1 nm. Aucune interpolation de données n'est utilisée dans cette carte. La barre de couleur est saturée à 15 (%/nm) pour distinguer les frontières séparant le domaine nanométrique du domaine micrométrique.

La première caractéristique frappante est la présence de deux domaines différents. Le premier est un petit domaine qui correspond à  $w_1 + w_2 < 0.5 \lambda_{SP}$  associé au régime nano-structuré où les dimensions des structures sont nanométriques. Nous observons que ces nanostructures ont une sensibilité à une couche biologique supérieure à celle d'une biopuce conventionnelle  $\Delta R$  (% / nm)  $> 10.87$ . En effet, la sensibilité atteint son maximum de  $\Delta R$  (% / nm)  $\approx 31$  (% / nm) pour une structure avec ( $K_1=0.045$  et  $K_2= 0.010$ ) puis diminue rapidement avec l'augmentation de  $K$ , pour atteindre la valeur du plateau correspondant  $K > 0.5$ . Mais le deuxième grand domaine correspondant à  $w_1 + w_2 > 0.5 \lambda_{SP}$  est associé au régime micro-structuré (les dimensions des structures sont micrométriques) et exprime une sensibilité proche de celle d'une biopuce conventionnelle. Nous remarquons aussi des valeurs minimales de sensibilité arrangées d'une manière périodique suivant des droites d'équation:  $w_2 + w_1 = (m/2) \lambda_{SP}$  avec  $m$  entier. Puisque  $w_1 = K_1 \lambda_{SP}$  et  $w_2 = K_2 \lambda_{SP}$ , ces droites correspondent à une valeur fixe de  $K$ , où  $K = K_1 + K_2 = \Lambda / \lambda_{SP}$ . En d'autres termes, le long de ces courbes, la période du réseau est constante, alors que  $K_1$  et  $K_2$  varient. Nous observons aussi l'existence d'une grande zone de faibles valeurs de sensibilité quand  $w_1 + w_2 = 3 \lambda_{SP}$ . L'objectif principal du paragraphe suivant est de fournir une explication complète des phénomènes plasmoniques qui se produisent dans chaque domaine: le domaine micrométrique (section 3.1.4.2) et le domaine nanométrique (section 3.1.4.3) en mettant l'accent sur la transition entre les deux domaines.

## 3.1.3.2. Étude de la région micrométrique

## 3.1.3.2.1. Évolution de la sensibilité

Afin d'examiner l'évolution de la sensibilité ainsi que l'influence des dimensions des structures sur la réponse des biopuces structurées, nous avons fait une coupe suivant la direction diagonale de la nappe. Cette droite, ayant comme équation  $w_1 = w_2$  (donc  $K_1 = K_2$ ), intersecte une grande partie du domaine nanométrique et micrométrique. Nous avons aussi choisi de tracer les courbes suivant des droites parallèles à la diagonale ayant comme équation  $w_2 = w_1 + \alpha \lambda_{SP}$ , où  $\alpha$  est une constante réelle (donc  $K_2 = K_1 + \alpha$ ). Ces différentes courbes (Figure 3. 8) confirment que les biopuces avec des structures de dimensions nanométriques ( $K < 0.5$ ) expriment des valeurs de sensibilité supérieures à celles d'une biopuce conventionnelle (avec une épaisseur d'or optimale  $h = 56.7$  nm). En effet, à partir de ces courbes, la sensibilité atteint son maximum  $\Delta R$  (% / nm) = 21.6 pour la plus petite structure calculée ( $K_1 = K_2 = 0.01$ ) et diminue brusquement dès que  $K$  augmente. Ceci traduit une chute brutale de la performance de la puce en augmentant la période de la structuration. Contrairement au domaine nanométrique, une sensibilité moyenne autour de 9.7 (% / nm) est dominante dans le domaine micrométrique. Cette sensibilité est inférieure à la réponse optimale d'une biopuce conventionnelle ( $h = 56.7$  nm) et elle est en fait équivalente à la réponse d'une puce conventionnelle d'épaisseur  $h_1 = 64.2$  nm (respectivement  $h_2 = 49.2$  nm). Néanmoins, la figure 3. 8 montre l'existence de chutes prononcées de sensibilité, avec une période de  $\lambda_{SP}/2$  due au phénomène de Bragg (Barnes, Dereux et al. 2003). Il existe aussi des chutes de sensibilité moins prononcées avec une périodicité inférieures à  $\lambda'_{SP} / 2$ . Cette deuxième périodicité sera interprétée ultérieurement.

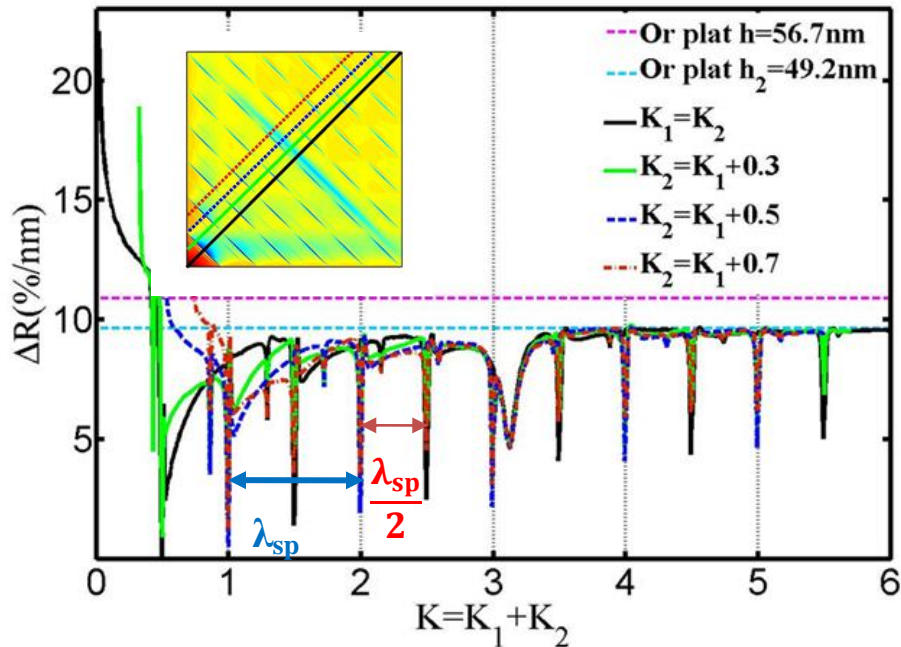
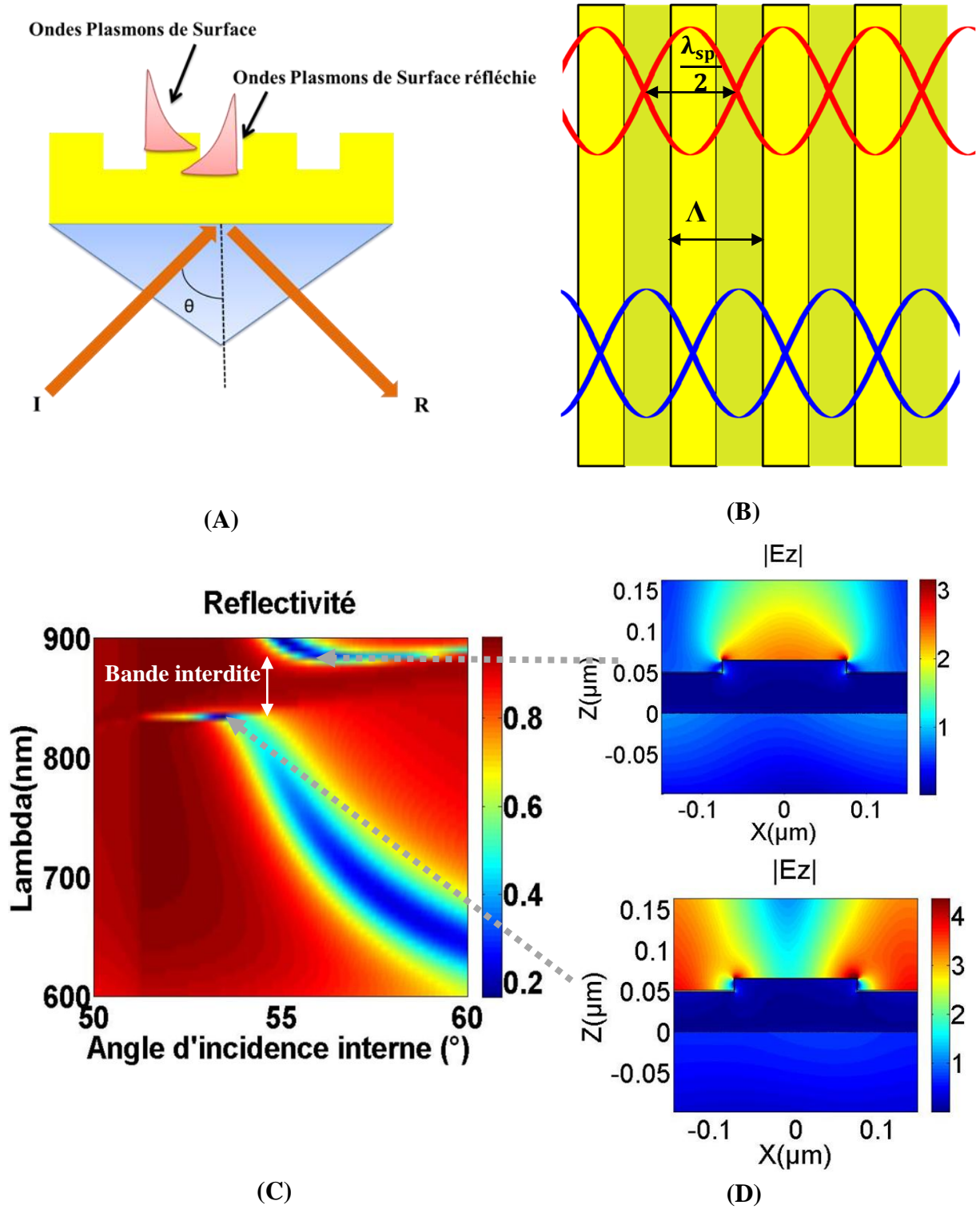


Figure 3. 8: Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R$  (% / nm) extraites de la nappes de sensibilité suivant des droites d'équation  $K_2 = K_1 + \alpha$ . Les différentes courbes sont tracées en fonction de la période normalisée  $K$ . La ligne horizontale en pointillée violette indique la sensibilité d'une surface non structurée pour une épaisseur optimale de la couche d'or de 56.7 nm. La ligne horizontale en pointillé bleu ciel indique la sensibilité d'une surface non structurée pour une épaisseur de la couche d'or  $h_2 = 49.2$  nm.

L'interprétation du phénomène de diffusion de Bragg, responsable de la périodicité  $\lambda_{SP}/2$ , a été évoquée par Barnes et *al* (Barnes et al. 1996) qui a expliqué que dans le cas où une onde plasmon de surface se propage perpendiculairement à la direction d'un réseau (lamellaire, sinusoïdale,...), les structures ou bien les ondulations du réseau **perturbent la propagation initiale des ondes PP** et génèrent **des ondes PP réfléchies** se propageant dans la même direction mais en sens opposés. Dans la condition spécifique, qu'on appelle condition de **la diffusion de Bragg**, où **la période du réseau est égale à la moitié de la longueur d'onde plasmons de surface**  $\lambda_{SP}$ , les deux types d'ondes (initiale et réfléchie) interfèrent d'une manière destructive et génèrent ainsi une **onde stationnaire**. Nous pouvons utiliser les arguments de symétrie pour trouver le positionnement des nœuds de l'onde stationnaire par rapport au réseau. En effet, pour conserver le même déphasage favorisant l'interférence constructive entre les deux ondes au même point sur la période suivante, les deux ondes doivent parcourir le même trajet optique. Ceci impose l'existence de deux modes plasmoniques (Figure 3. 9): le premier est associé à la configuration où le mode électromagnétique est concentré sur la partie supérieure de chaque structure d'un réseau, par contre le second mode est associé à la configuration du mode électromagnétique qui est concentré en bas du réseau. Les deux modes plasmoniques ont des niveaux d'énergie différents. L'origine d'une telle **différence d'énergie** devient évidente si nous tenons compte de la nature des modes concernés et de la différence d'indices de réfraction effectifs des deux régions spécifiées à chaque mode (haut/bas). Ainsi la différence entre les niveaux d'énergie associés à chaque configuration provoque la création d'une bande spectrale interdite (Band-gap). Par conséquent, les ondes plasmons de surfaces dans cette bande spectrale ne peuvent pas se coupler à la lumière incidente et on observe donc une réflexion totale. La sensibilité s'annule en conséquence quasiment pour  $K_1 = K_2 = 0.5$ . Mais cette chute de sensibilité devient moins prononcée au fur et à mesure que la valeur de  $K$  augmente. Ceci peut être expliqué par le rôle des différents ordres de diffraction qui deviennent importants par rapport à la réflexion spéculaire (diffraction d'ordre 0) en engendrant ainsi une diminution de l'efficacité de la diffusion de Bragg.

La Figure 3. 8 permet aussi de distinguer deux types de courbes selon la valeur de la constante  $\alpha$ . En effet, si la valeur de  $\alpha$  est différente d'un demi entier, tel que présenté par la courbe rouge et la courbe verte, nous remarquons que les valeurs minimales de la sensibilité, dues au phénomène de diffusion de Bragg, se produisent périodiquement avec une période égale à  $\lambda_{SP}/2$ , pour des valeurs particulières de  $K$  qui correspondent à des entiers ou bien des demi entiers. En revanche, si  $\alpha$  est un entier (la courbe bleue) nous constatons que les valeurs minimales de la sensibilité, se produisent périodiquement, également pour des valeurs particulières de  $K$  mais avec une période égale à  $\lambda_{SP}$ .







Afin de mieux mettre en évidence la périodicité  $\lambda_{SP}$  nous avons aussi choisi de tracer des courbes suivant des droites parallèles à la diagonale avec  $K_2 = K_1 + p/2$  (Figure 3. 10) dans le cas particulier où  $p$  est un entier ( $p = \pm 1, p = \pm 2$ ). Nous remarquons que nous avons deux types de courbes caractérisées par différentes positions des minima relatifs de sensibilité selon la valeur de  $p$ : dans le cas où  $p$  est pair, les minima coïncident avec des valeurs demi entières de  $K$ . Par contre, dans le deuxième cas où  $p$  est impair, les minima coïncident avec des valeurs entières de  $K$ .

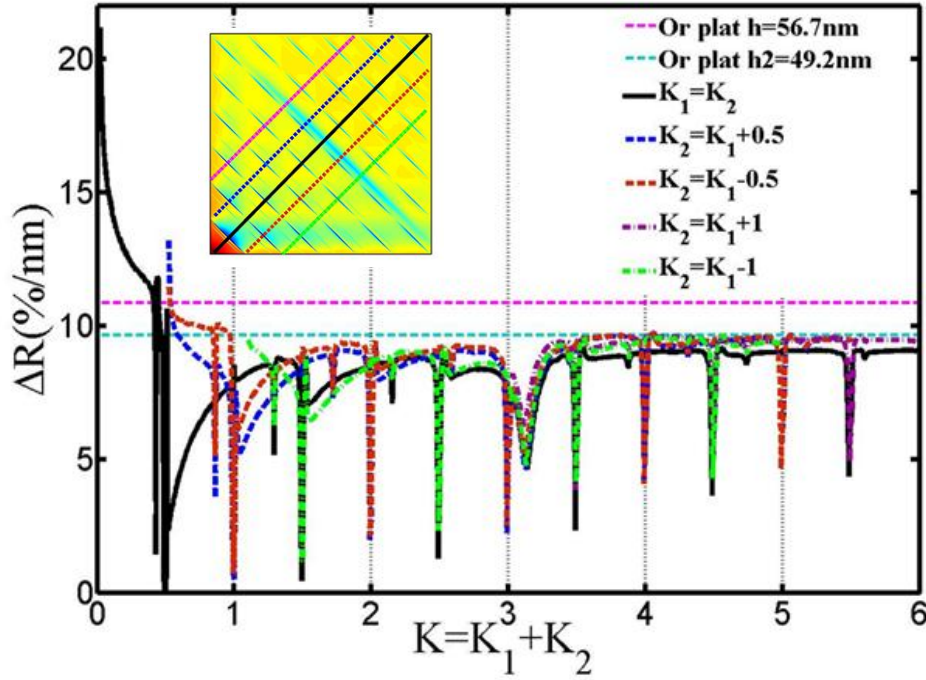


Figure 3. 10: Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R$  (% / nm) extraites de la nappe de sensibilité suivant des droites d'équation  $K_2 = K_1 + p/2$ . Les différentes courbes sont tracées dans le cas particulier correspondant à  $p$  entier. La ligne horizontale en pointillé violet indique la sensibilité d'une surface non structurée pour une épaisseur optimale de la couche d'or de 56.7 nm. La ligne horizontale en pointillé bleu-ciel, indique la sensibilité d'une surface non structurée pour une épaisseur de la couche d'or  $h_2 = 49.2$  nm.

Afin de mieux comprendre l'origine de la périodicité  $\lambda_{SP}$  tout en soulignant le comportement cyclique de la sensibilité déjà mentionnée, nous avons extrait de la carte de sensibilité différentes coupes suivant les droites d'équation  $K_1 + K_2 = p/2$ . Ces droites sont perpendiculaires à la diagonale de la nappe de sensibilité. Les courbes de sensibilité obtenues sont tracées en fonction de  $K_1 - K/2$  (ou  $K_2 - K/2$ ) à une valeur fixe de  $K$ . Nous avons choisi de tracer dans un premier temps, les courbes pour des valeurs de  $K$  entières et demi entières. Afin de simplifier la comparaison, les différentes courbes sont centrées autour de l'axe  $K_1 = K_2$  (Figure 3. 11-A).

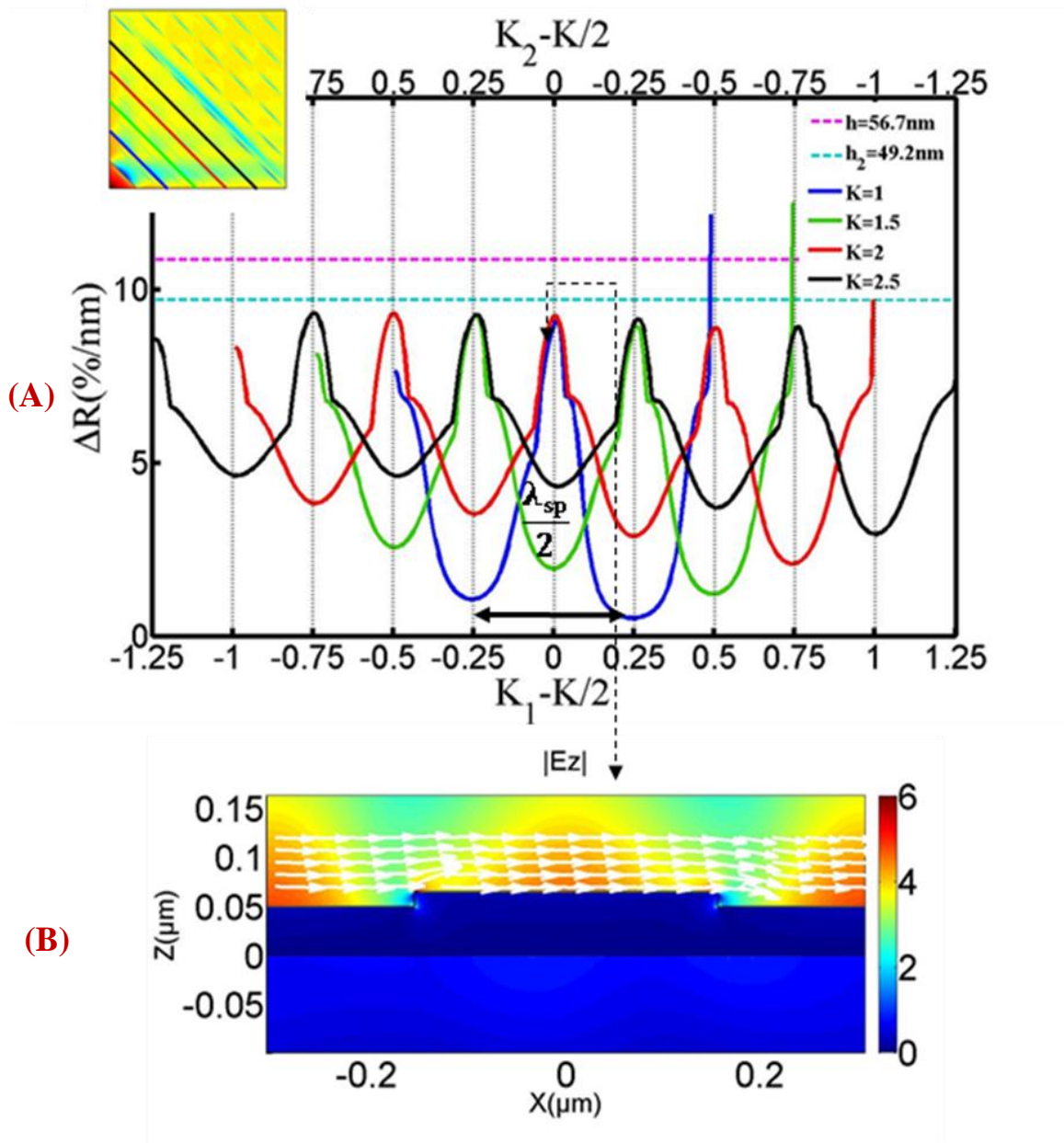


Figure 3. 11: (A) Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R (\% / \text{nm})$  extraites de la nappe de sensibilité suivant des droites d'équation  $K_1 + K_2 = p/2$ . Nous avons choisi des valeurs particulières de  $K$  (entières et demi-entières). Les différentes courbes sont centrées autour de  $K_1 = K_2$ . (B) Carte présentant la composante  $z$  du champ électrique  $|E_z|$  et correspondant à la configuration associée à  $(K_1 = 0.5, K_2 = 0.5, K = 1)$ .

Si nous nous focalisons maintenant sur l'ensemble des courbes, nous remarquons l'existence de deux types de courbes périodiques possédant la même périodicité ( $\lambda_{sp}/2$ ) et qui sont engendrées par le phénomène de la diffusion de Bragg : dans le premier type, les courbes sont en phase entre elles (ex :  $K = 1, K = 2$ ) et dans le second type de sections elles sont en opposition de phase entre elles (ex :  $K = 1.5, K = 2$ ). L'alternance entre ces deux types de courbes (en phase et en opposition de phase) explique la périodicité  $\lambda_{sp}$  déjà déduite à partir de la figure 3. 10. La figure 3. 11-A illustre aussi l'existence des maxima relatifs. À partir du calcul du champ électrique (figure 3. 11-B) pour un exemple de configuration associée à ces maxima ( $K_1 = 0.5, K_2 = 0.5$ ), nous pouvons les attribuer à des modes plasmoniques quasi - propagatifs spatialement localisés sur les nœuds et les ventres des structures.

Afin de souligner la particularité des cas correspondant aux  $K$  entiers ou demi-entiers nous avons extrait les courbes de sensibilité pour une plage de valeurs de  $K$  allant de 1 à 1.8 avec un pas de 0.2. Ces courbes sont rassemblées dans la figure 3. 12. En dehors des valeurs particulières de  $K$  (entières ou demi entières), nous constatons que les chutes de sensibilité deviennent moins intenses pour  $K$  croissant. La sensibilité tend vers la réponse d'une biopuce conventionnelle ( $h_1 = 64.2$  nm ou bien  $h_2 = 49.2$  nm) où le comportement d'un plasmon propagatif domine.

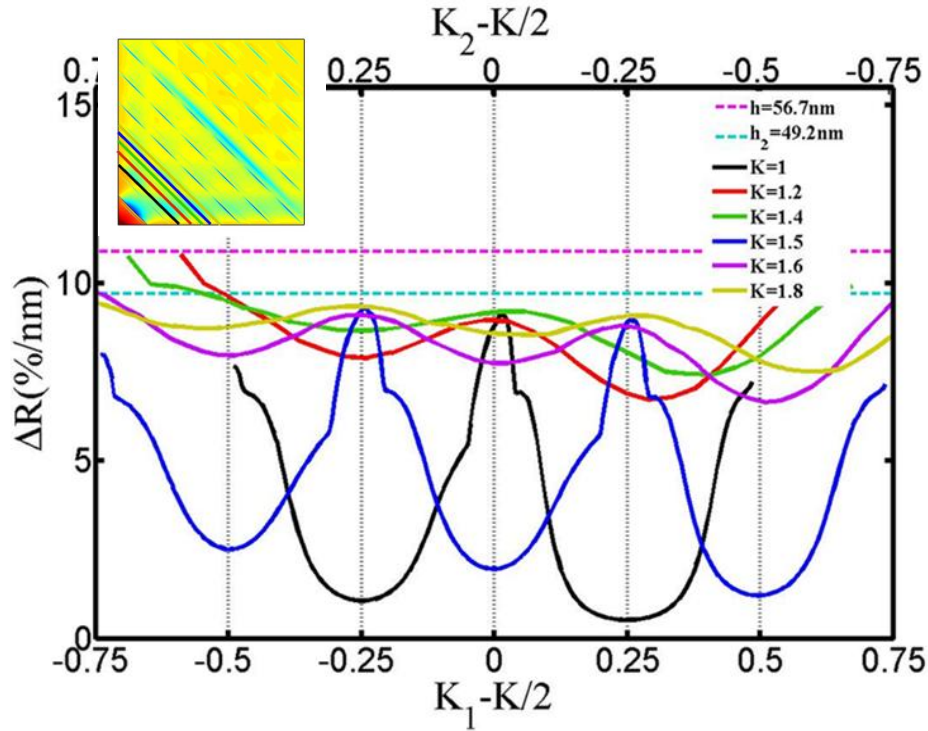


Figure 3. 12: Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R$  (% / nm) extraites de la nappe de sensibilité suivant des droites d'équation  $K_1 + K_2 = p/2$ .  $K$  allant de 1 à 1.8 avec un pas de 0.2. Les différentes courbes sont centrées autour de  $K_1 = K_2$ .

Nous avons également cherché à mettre en évidence le comportement de la sensibilité, et à souligner l'influence des paramètres  $K_1$  et  $K_2$  en effectuant des coupes verticales ( $K_1$  fixe) et horizontales ( $K_2$  fixe) à la nappe, sachant que les valeurs  $K_1$  et  $K_2$  appartiennent au régime micro-structuré  $K_1 + K_2 > 0.5$ . En traçant ainsi la sensibilité en fonction de  $K$  pour différentes valeurs fixes de  $K_1$  et  $K_2$  nous obtenons la figure 3. 13.

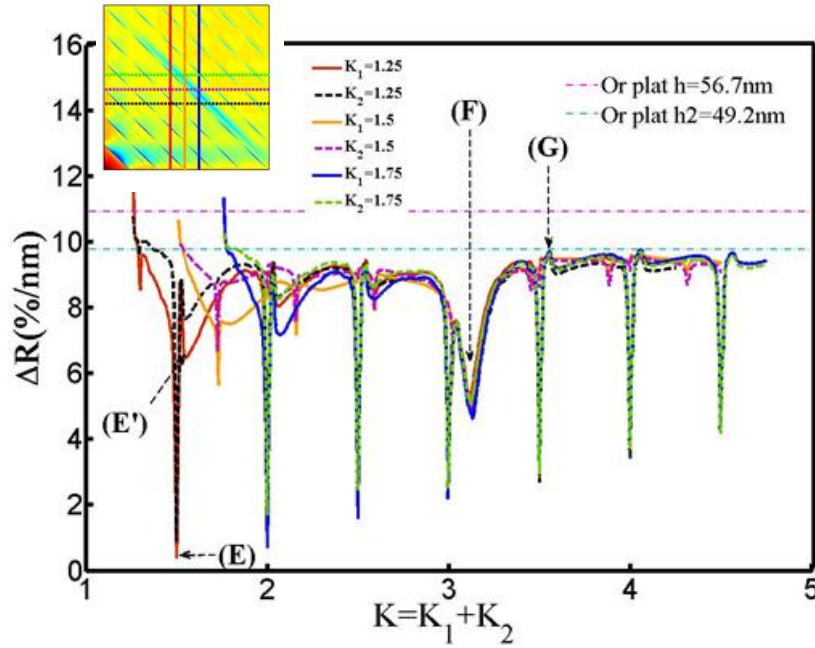


Figure 3. 13: Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R$  (% / nm) extraites de la nappes de sensibilité suivant des sections verticales en fixant la valeur de  $K_1$  et des sections horizontales associées à  $K_2$  fixe.

Nous commencerons la discussion par le cas général où ni  $K_1$  et ni  $K_2$  ne sont ni entier ni demi-entiers (ex: la courbe rouge et la courbe noir) puis nous enchainons par l'étude du cas où ils sont entiers ou demi-entiers (ex: la courbe orange).

- **Cas où  $K_1$  ou  $K_2$  sont différents d'un entier et d'un demi-entier**

Tout d'abord, les courbes de sensibilité confirment que la sensibilité obtenue par un réseau micro structuré est inférieure à la sensibilité d'une biopuce intégrant une couche d'or uniforme d'épaisseur optimale (représentée par la ligne horizontale en violet), et elle est légèrement supérieure, pour certaines zones, à la sensibilité d'une biopuce basée sur une couche uniforme d'or avec une épaisseur métallique 64.2 nm ou bien 49.2 nm. Nous retrouvons dans ces courbes des chutes de sensibilité prononcées (par exemple: la figure 3. 13 point (E)) qui se reproduisent avec une périodicité de  $\lambda_{sp}/2$  pour les valeurs de  $K$  entières et demi entières.

Nous ne pouvons pas aussi négliger l'existence d'autres chutes de sensibilité peu profondes (par exemple: figure 3. 13 point (E')) qui ont une périodicité  $\lambda'_{sp}/2$  avec  $\lambda'_{sp} \approx 470\text{ nm}$ . Ce deuxième type de chute de sensibilité admet une empreinte importante pour  $K = 3.12$  dû au chevauchement entre les deux types de chutes de sensibilité (figure 3. 13 point (F)). L'existence de ce deuxième type de chute est aussi expliquée par le phénomène de Bragg mais concerne cette fois l'onde plasmon excitée entre le métal et le prisme (Schröter et al. 1999). Enfin, il est également connu que sur le bord de la bande interdite, la densité des modes plasmons de surface est élevée ce qui explique une légère augmentation de sensibilité (Benahmed and Ho 2007), visible dans la figure 3. 13 (point (G)).



- **Cas où  $K_1$  ou  $K_2$  sont entiers ou demi-entiers**

Dans le cas particulier où  $K_1$  ou  $K_2$  sont des entiers ou des demi-entiers, nous notons l'absence d'une chute de sensibilité prononcée. La sensibilité n'est que légèrement affectée par le couplage entre l'onde plasmon créée à l'interface métal-prisme et l'onde réfléchie par le réseau.

Afin de confirmer notre analyse, nous allons étudier le champ électrique et magnétique à proximité de la surface métallique, en particulier aux endroits de la structure où se localise l'amplification du champ électrique ou magnétique.

### 3.1.3.2.2. Calcul du champ électrique et du champ magnétique

Grâce à la méthode hybride permettant d'obtenir l'intensité du champ électrique et magnétique à proximité de la surface de biocapteur, il est possible d'étudier les différents modes de couplage plasmonique. La figure 3. 14 montre les différentes cartes de la composante du champ magnétique  $|H_y|$  et de la composante du champ électrique  $|E_z|$  dans le cas de l'or plat, à une longueur d'onde incidente  $\lambda = 850$  nm servant de base de comparaison. Ces deux composantes caractéristiques de l'onde plasmon de surface, décroissent exponentiellement en s'éloignant de l'interface du métal. Le vecteur de Poynting donné par  $\vec{P} = \vec{E} \wedge \vec{H}^*$  est indiqué par des flèches blanches sur la carte du champ électrique désignant ainsi le flux d'énergie circulant sur la surface de la structure. On rappelle (chapitre 1) que dans le cas de l'or uniforme, la profondeur de pénétration de l'onde évanescente dans l'eau est de  $\approx 420$  nm pour  $\lambda = 850$  nm.

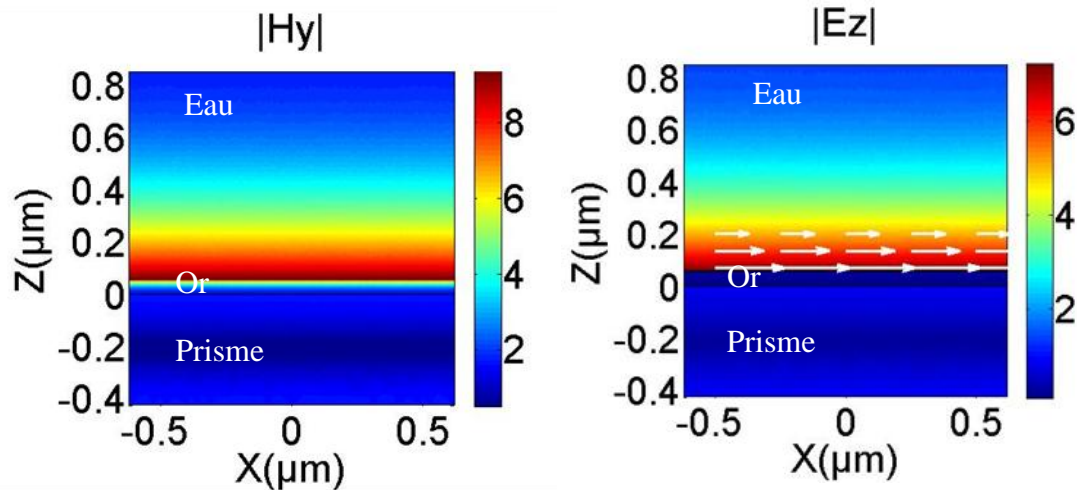


Figure 3. 14: Cartes présentant la composante y du champ magnétique  $|H_y|$  et la composante z du champ électrique  $|E_z|$  et correspondant à un film métallique d'épaisseur 56.7 nm. L'excitation de l'onde plasmon à l'interface métal diélectrique s'effectue à une longueur d'onde incidente  $\lambda = 850$  nm et pour un angle correspond au maximum de sensibilité ( $53.4^\circ$ ). Le vecteur de Poynting représenté par des flèches blanches met en évidence le sens du flux d'énergie.

Contrairement à la distribution uniforme du champ électrique dans le cas d'une surface métallique plane, la présence d'un réseau, dans le cas des configurations E, F et G (respectivement figure 3. 15, figure 3. 16 et figure 3. 17), engendre une modulation du champ électrique et magnétique. La nature des plasmons de surface change donc lorsqu'ils se propagent le long d'une surface périodiquement structurée à l'échelle de la longueur d'onde de la lumière (Barnes 2003).

Pour la configuration E (Figure 3. 15) le champ magnétique est principalement concentré sur la surface qui sépare le métal et le milieu aqueux. Ceci indique un couplage entre l'onde plasmonique initiale et l'onde réfléchie par le réseau dans les conditions de Bragg. L'efficacité du couplage de ces deux modes affecte non seulement la dégradation de la sensibilité mais aussi l'intensité du champ électrique qui est plus faible par rapport aux autres configurations (F et G). Une coupe suivant les coordonnées curvilignes, à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique, permet de confirmer la dissymétrie au niveau de la distribution du champ électrique. Les flèches en blanc, indiquant le vecteur de Poynting, reflètent la circulation du flux d'énergie dans deux sens opposés, confirmant ainsi l'existence d'une onde stationnaire due à l'interférence entre l'onde plasmon de surface et celle réfléchie.

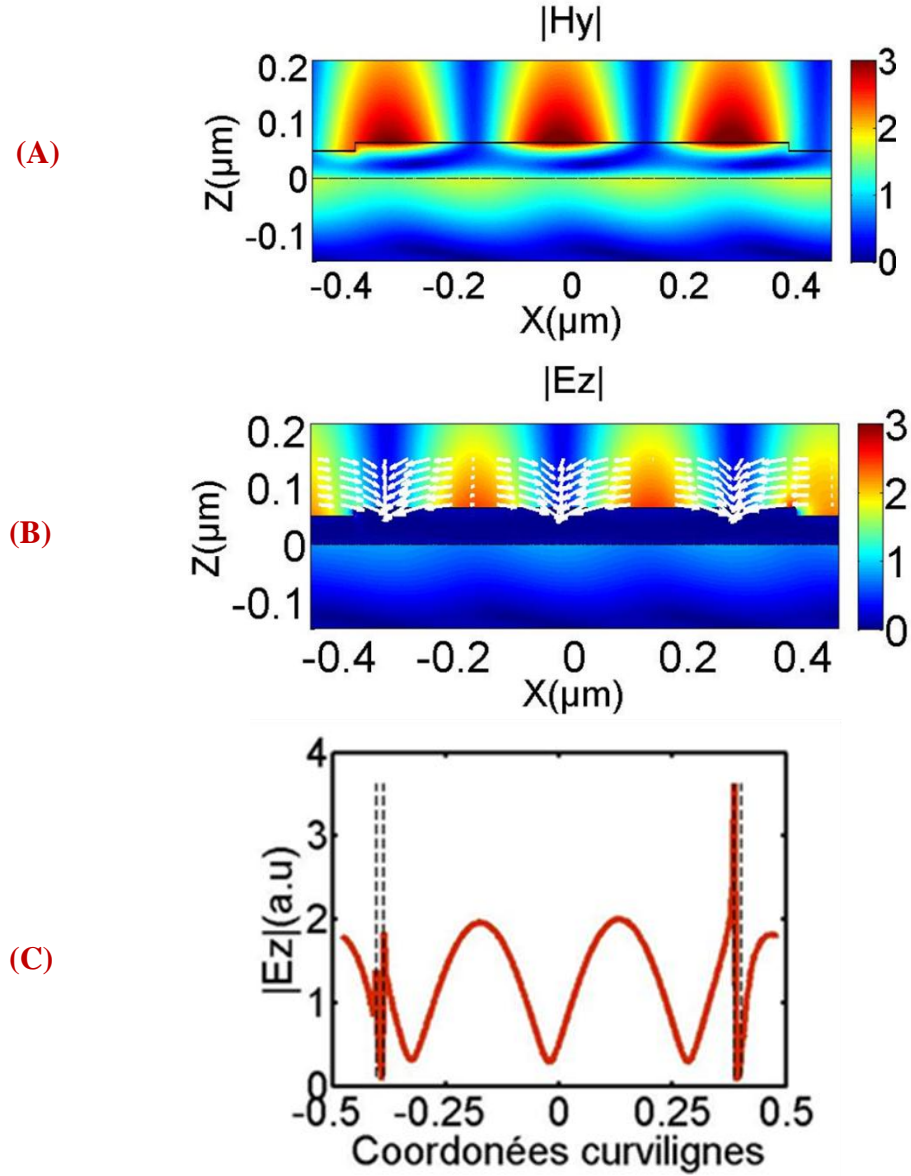


Figure 3. 15: (A)-(B) Cartes présentant la composante y du champ magnétique  $|H_y|$  et la composante z du champ électrique  $|E_z|$  et correspondant à la configuration E associées à  $K_1 = 1.25$ ,  $K_2 = 0.25$ ,  $K = 1.5$ . Le vecteur de Poynting représenté par des flèches blanches prouve l'existence d'une onde stationnaire qui confirme la création de la bande interdite. (C) Coupe suivant les coordonnées curvilignes, à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique. Les droites en pointillés désignent les coins de la structure.

Pour la configuration F, un champ magnétique intense est observé à l'interface métal-prisme indiquant un fort phénomène de couplage entre l'onde plasmon de surface se propageant à l'interface métal-prisme et celle réfléchi par le réseau (Schröter and Heitmann 1999). Ce couplage de mode à l'interface métal-prisme est moins efficace comparé à la configuration E. Le vecteur de Poynting montre un flux d'énergie qui s'oriente dans un seul sens à l'interface métal-milieu aqueux, indiquant un mode propagatif. Ceci permet d'écarter donc l'hypothèse d'un phénomène d'interférences à la surface métal-milieu aqueux de la structure. Une coupe horizontale suivant les coordonnées curvilignes montre que le champ électrique correspondant à cette configuration est aussi caractérisé par une dissymétrie au niveau de l'intensité du champ électrique accompagnée d'une exaltation au niveau des coins de la structure, plus forte qu'en configuration E.



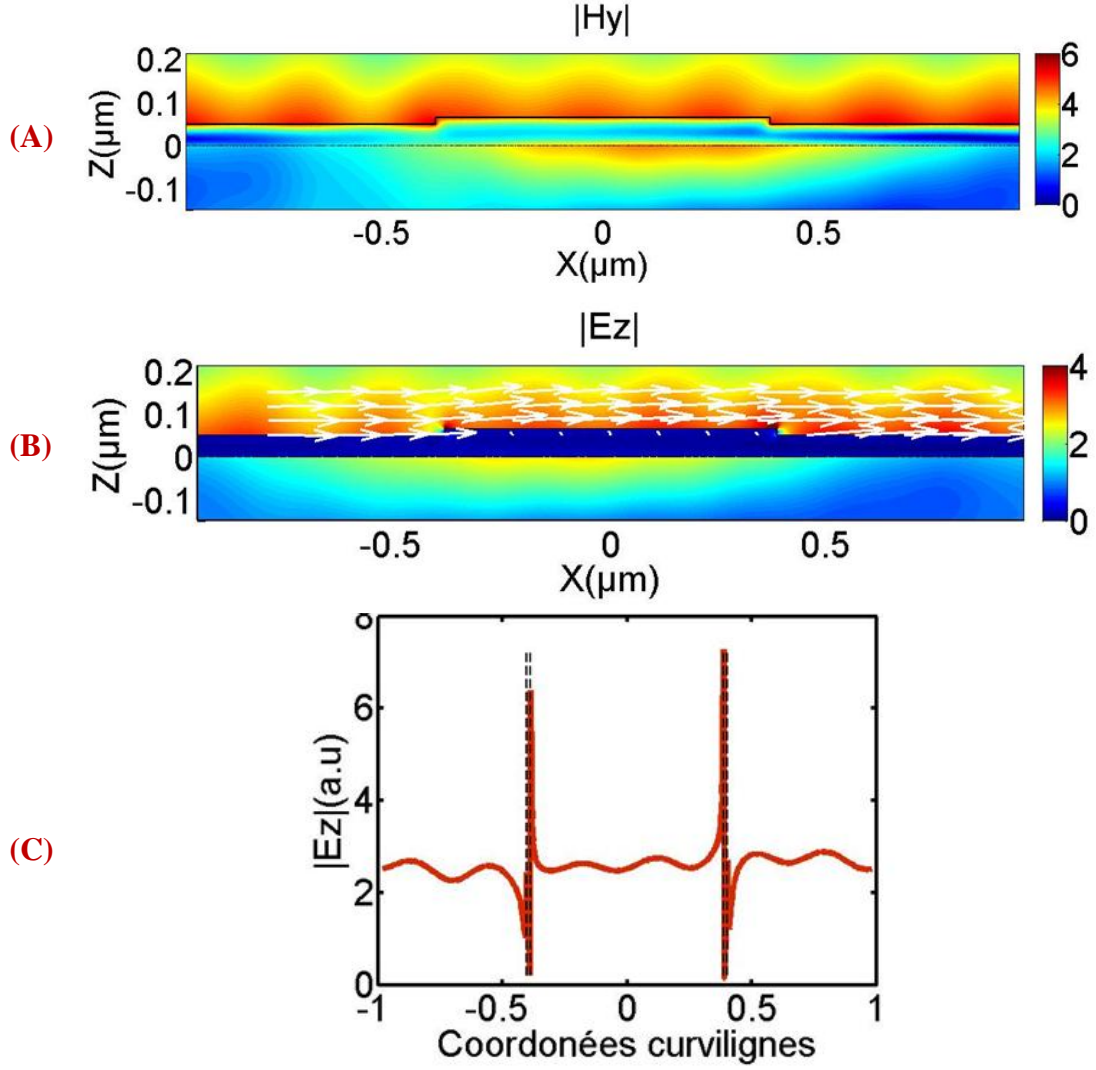


Figure 3. 16: (A)-(B) Cartes présentant la composante y du champ magnétique  $|H_y|$  et la composante z du champ électrique  $|E_z|$  et correspondant à la configuration F associée à  $(K_1 = 1.25, K_2 = 1.87, K = 3.12)$ . (C) Coupe du champ électrique suivant les coordonnées curvilignes.

Enfin pour la configuration G, le champ magnétique concentré sur la surface de la structure ainsi que le vecteur de Poynting montre la dominance du mode plasmons de surface propagatif à l'interface métal-milieu aqueux. Une coupe horizontale suivant les coordonnées curvilignes montre deux caractéristiques importantes : premièrement une distribution symétrique du champ électrique à la surface du métal, et deuxièmement une exaltation importante du champ au niveau des coins de la structure. Ces caractéristiques renforcent l'interprétation de l'existence de densité de modes plasmons de surface élevée due aux effets de bord de la bande interdite.

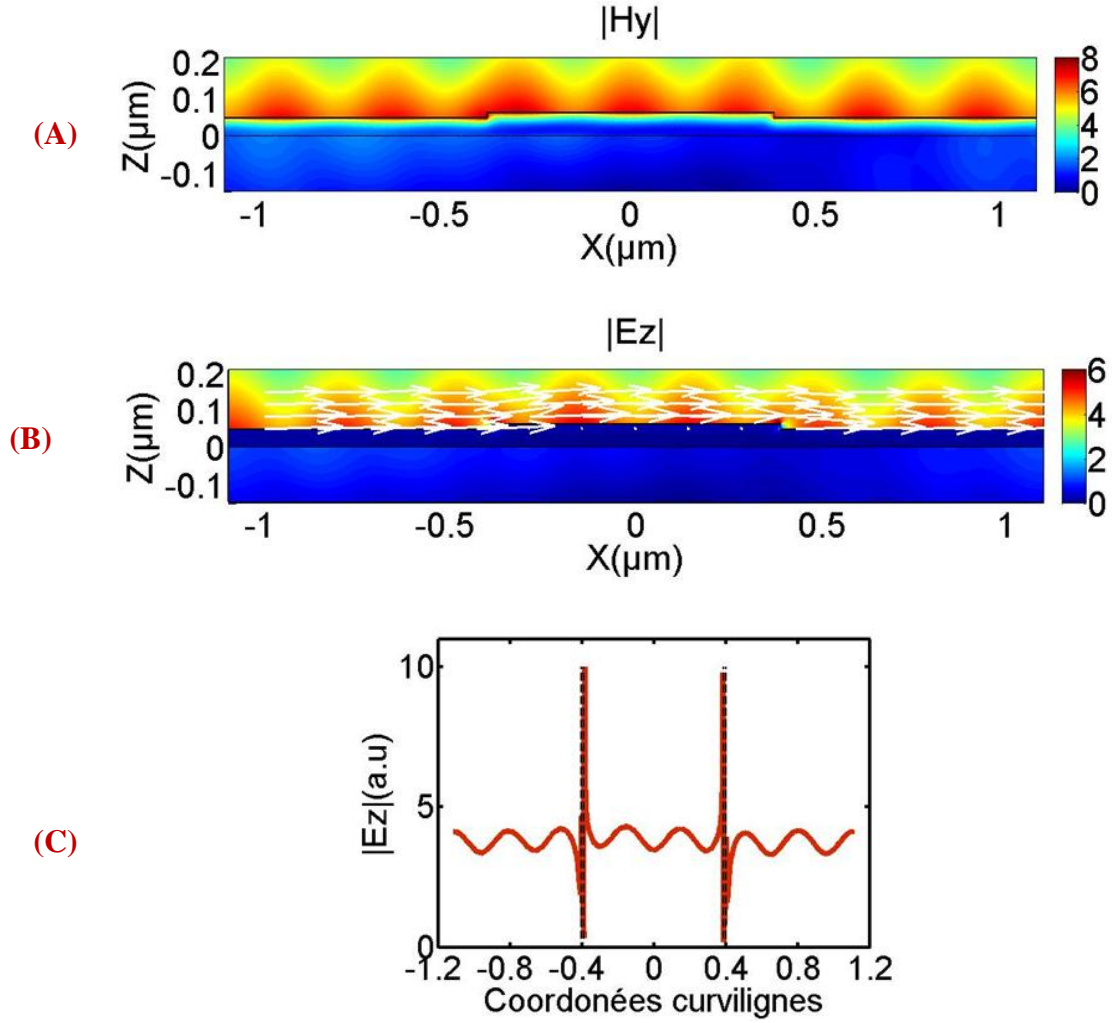


Figure 3.17: (A)-(B) Cartes présentant la composante y du champ magnétique  $|H_y|$  et la composante z du champ électrique  $|E_z|$  pour la configuration G ( $K_1 = 1.25$ ,  $K_2 = 2.3$ ,  $K = 3.55$ ). (C) Coupe horizontale du champ électrique suivant les coordonnées curvilignes, confirmant une distribution symétrique du champ électrique.

#### 3.1.3.2.3. Étude de la réflectivité

Afin de souligner la corrélation entre le comportement de la réflectivité et la réponse du réseau en terme de sensibilité, nous avons calculé la réflectivité en fonction de  $K$  et de l'angle d'incidence (Figure 3.18) pour des configurations correspondantes à différentes valeurs de  $K_1$  ( $K_1 = 1.25$ ,  $K_1 = 1.5$ ,  $K_1 = 1.75$ ). Pour une valeur de  $K$  donnée, on s'attend à observer une résonance de plasmon. La correspondance entre le comportement du réseau en terme de réflectivité et sa réponse en terme de sensibilité met en évidence les minima de sensibilité, observés dans les figures précédentes, qui coïncident avec ces valeurs particulières de  $K$  où l'onde plasmonique ne se propage pas. Comme vu précédemment lorsque  $K_1$  est entier ou demi-entier, la diffusion de Bragg n'intervient pas et on retrouve une résonance plasmonique classique.

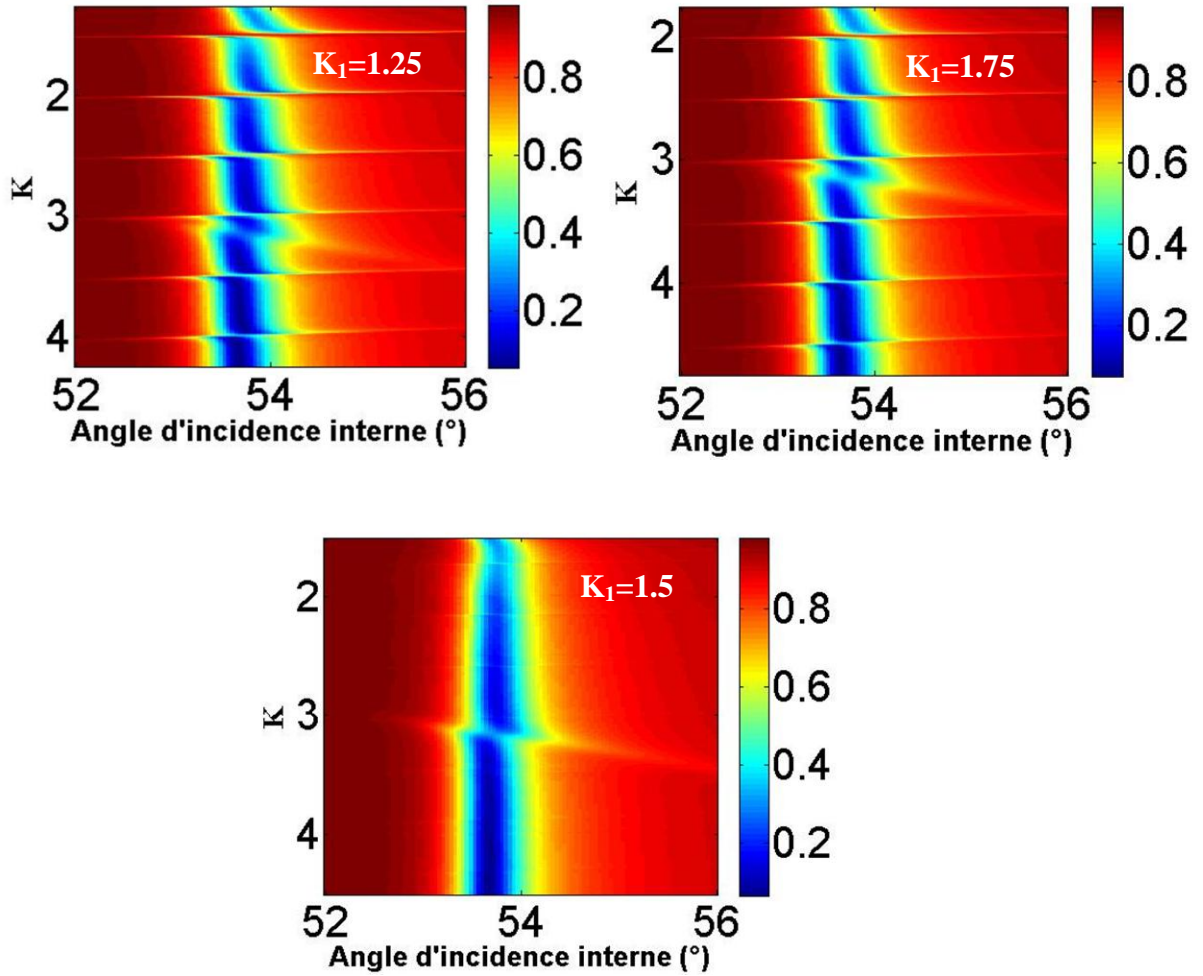


Figure 3. 18: Réflectivité TM/TE tracée en fonction des angles internes et en fonction de K en fixant la valeur de  $K_1$ . Dans le cas de  $K_1 = 1.25$ ,  $K_1 = 1.75$ , la propagation des plasmons de surface est interdite lorsque K est égal à un entier ou un demi-entier. Cependant dans le cas où  $K_1 = 1.5$  ces bandes interdites sont absentes.

A partir de la nappe de réflectivité tracée en fonction des angles internes et en fonction de K pour  $K_1 = 1.25$ , nous pouvons extraire différentes courbes de réflectivité angulaire. Ceci permet d'étudier l'impact de la bande interdite sur la forme des courbes de réflectivité (Figure 3.19). Il est visible sur cette figure que la valeur de K affecte la forme de la courbe de réflectivité ainsi que la valeur de l'angle de résonance. En effet, en s'approchant de la bande interdite, la courbe de réflectivité devient plus large et moins prononcée, ce qui rend plus difficile son exploitation pour la bio-détection.

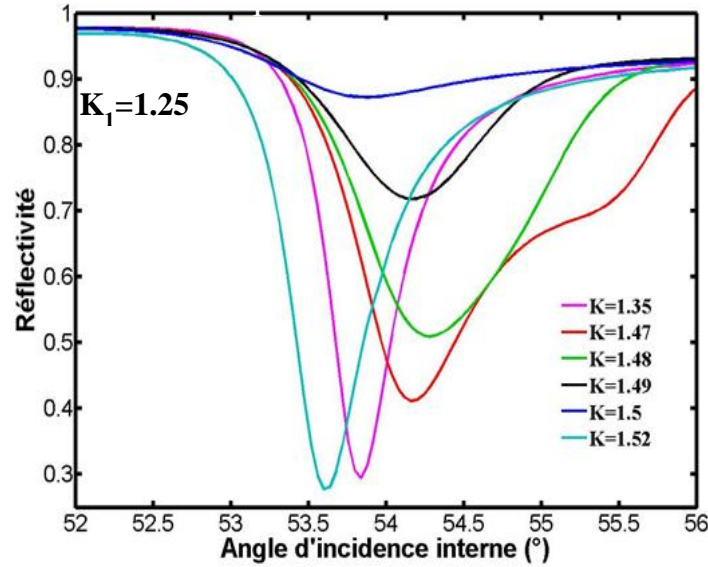


Figure 3. 19: Courbes de réflectivité angulaire, calculées pour  $K_1 = 1.25$  pour différentes valeurs de  $K$ , illustrant l'impact de la variation de la période sur la forme de la courbe de réflectivité et de la position de l'angle de résonance.

Étant donné que dans le domaine micro-structuré, le mode propagatif domine, nous pouvons conclure que l'effet principal du réseau consiste, pour certaines périodes, à l'interdiction de la propagation des plasmons à cause du phénomène de la diffusion de Bragg.

### 3.1.3.3. Étude de la région nanométrique

#### 3.1.3.3.1. Évolution de la sensibilité

Comme il est indiqué dans la section précédente, la première caractéristique frappante de cette carte de sensibilité en terme de  $\Delta R$  (%/nm) est la présence d'un petit domaine associé au régime nano-structuré qui présente une grande sensibilité  $\Delta R$  (%/nm) (Figure 3. 20-a). La question cruciale, qui mérite aussi une plus grande attention, est la transition de la réponse d'un réseau lorsque l'on passe du domaine micrométrique vers le domaine nanométrique. Nous avons pour cela agrandi la zone  $w_1 + w_2 < \lambda_{SP}$ .

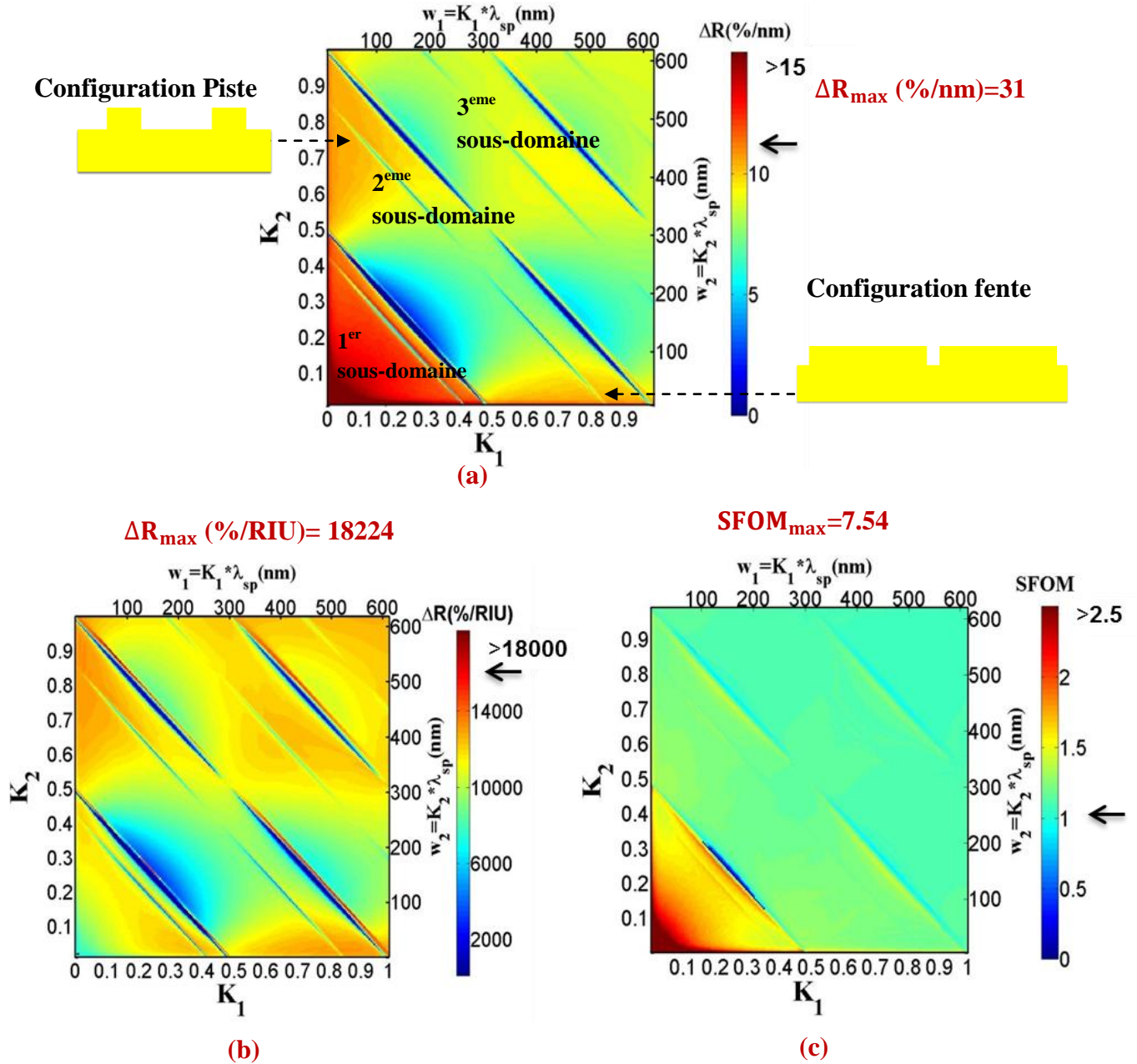


Figure 3. 20 : (a) Cartographie de la sensibilité  $\Delta R$  (% / nm) de la surface nano-structurée pour  $K_1$  et  $K_2$  de 0.01 à 1 avec un pas de 0.005. (b) Cartographie de la sensibilité  $\Delta R$  (% / RIU) de la surface nano-structurée pour les mêmes paramètres (c) Cartographie de la figure de mérite de la sensibilité (SFOM). La petite flèche en noire désigne la réponse d'une biopuce conventionnelle.

La cartographie de sensibilité  $\Delta R$  (%/nm) de la surface nano-structurée (Figure 3. 20-a), permet de distinguer trois comportements différents selon les valeurs de  $w_1$  et  $w_2$ . Pour le premier sous-domaine qui correspond à  $w_1 + w_2 < 0.5 \lambda_{sp}$  et qui est remarquablement limité par la première bande interdite (gap), nous avons une amélioration importante de la sensibilité comparée à celle d'une biopuce conventionnelle. En effet, la sensibilité de réflectivité atteint 31 (%/nm) pour une configuration caractérisée par  $K_1 = 0.045$  et  $K_2 = 0.010$  ( $w_1 = 27.84$  nm et  $w_2 = 6.19$  nm). Une telle structure possède une sensibilité à la fixation d'une couche biomoléculaire 2.8 fois plus grande que celle d'une biopuce conventionnelle. Le second sous-domaine, correspondant à  $w_1 + w_2$  compris entre  $0.5 \lambda_{sp}$  et  $\lambda_{sp}$ , présente aussi une faible



amélioration de la sensibilité qui est clairement moins intense comparée au premier sous-domaine. Cette faible augmentation est associée à deux configurations possibles : les pistes (nano-ridges) se caractérisant par des petites valeurs de  $w_1$  et les fentes (nano-grooves) se caractérisant par des petites valeurs de  $w_2$  comparée à la période. Finalement, quand  $w_1 + w_2 > 0.5 \lambda_{SP}$ , la sensibilité tend vers la réponse d'une biopuce conventionnelle. Ces trois sous-domaines sont séparés par des chutes des valeurs de la sensibilité dues au phénomène de la diffusion de Bragg.

Étant donné l'importance de ces résultats, nous avons étudié aussi la réponse d'un réseau nano-structuré (exprimée en terme de  $\Delta R$  (%/RIU)) suite à un changement de l'indice de réfraction du milieu aqueux environnant. Les calculs ont été effectués en utilisant un saut d'indice  $\Delta n = 5 \times 10^{-4}$  RIU. La sensibilité à un tel changement d'indice de réfraction pour une biopuce conventionnelle est estimée à  $\Delta R = 16483$  (%/RIU) et prise comme référence de comparaison, dans le but de d'évaluer la performance d'une biopuce structurée. Dans la figure 3. 20-b, la cartographie permet de visualiser des chutes dans la sensibilité qui sont dues à la diffusion de Bragg. D'autre part, en dehors des zones de Bragg, les valeurs de la sensibilité (%/RIU) sont significativement inférieures à celle d'une biopuce conventionnelle sauf pour quelques points spécifiques associés aux bords du gap (le maximum de la sensibilité calculé est 18224 (%/RIU) pour  $K_1 = 0.13$  et  $K_2 = 0.88$ ). Contrairement à la première nappe de sensibilité à une couche biologique (a), la sensibilité à un changement d'indice  $\Delta R$  (%/RIU) diminue dans le sous-domaine  $w_1 + w_2 < 0.5 \lambda_{SP}$ . Cela est en fait un avantage pour les mesures par IRPS des interactions biologique, puisque ceci reflète une moindre sensibilité à la variation d'indice du milieu aqueux (solution tampon) due à l'inhomogénéité ou bien l'effet de la dérive de la température dans la fluide, ce qui induit une réduction du bruit de mesure permettant ainsi l'amélioration de la capacité de la biopuce à détecter des biomolécules de très faible masse molaire. Pour mettre en évidence le sous-domaine dans lequel nous avons simultanément une haute sensibilité  $\Delta R$  (%/nm) et un faible bruit de mesure qui se traduit par des faibles valeurs de sensibilité  $\Delta R$  (%/RIU), nous avons calculé (figure 3. 20-c), la Figure de Mérite de la Sensibilité SFOM, normalisée par celle d'une surface métallique conventionnelle uniforme. La figure de mérite est ainsi donnée par:

$$SFOM = \frac{\frac{\Delta R(\%/nm)(\text{Surface structurée})}{\Delta R(\%/RIU)(\text{Surface structurée})}}{\frac{\Delta R(\%/nm)(\text{Surface uniforme})}{\Delta R(\%/RIU)(\text{Surface uniforme})}} \quad (III.7)$$

### 3.1.3.3.2. Évolution de la SFOM

Les différentes coupes verticales et horizontales de la nappe (c) permettent de tracer les courbes de SFOM en fonction de  $K$ , en fixant soit  $K_1$  soit  $K_2$  (figure 3. 21) et montrent que le maximum de la SFOM est égal à 7.54 pour une configuration se caractérisant par les paramètres  $K_1 = 0.045$  et  $K_2 = 0.010$  respectivement ( $w_1=27.84$  nm et  $w_2 = 6.19$  nm). Celle-ci est la même qui présente la plus haute sensibilité en terme de  $\Delta R$  (%/nm). Nous remarquons aussi que la SFOM admet une limite qui tend vers 1 quand  $w_1+w_2 > 0.5 \lambda_{SP}$  et présente des hautes valeurs pour  $w_1+w_2 < 0.5 \lambda_{SP}$  sauf dans le cas des configurations pistes (ridges) ou le cas des configurations fentes (grooves). Pour  $K= 0.5$ , nous remarquons une chute de SFOM due au phénomène de la diffusion de Bragg.

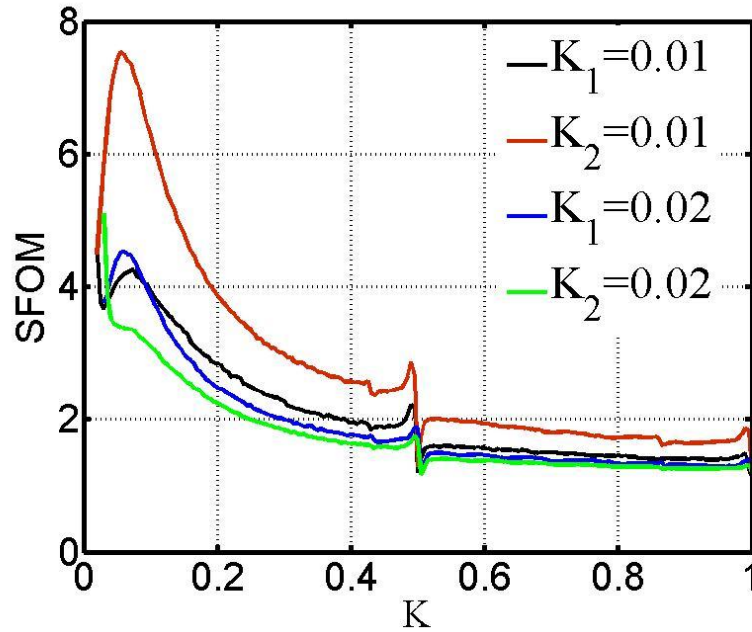


Figure 3. 21: Coupes extraites de la nappes de la figure de mérite de la sensibilité SFOM calculée pour une surface nano-structurée suivant des sections verticales en fixant la valeur de  $K_1$  et des sections horizontales associés à  $K_2$  fixe.

Afin de mieux comprendre la cause principale de l'amélioration au niveau de la figure de mérite particulièrement pour les faibles valeurs de  $K$ , nous avons extrait de la nappe de sensibilité en terme de  $\Delta R$  (%/nm) ainsi que de la nappe de sensibilité  $\Delta R$  (%/RIU), les courbes de sensibilité, en fonction de  $K$ , que nous avons rassemblées dans la Figure 3.22. Les coupes sont choisies de telle manière que ces structures réalisent un gain en terme de  $\Delta R$  (%/nm) et de SFOM et qui peuvent être réalisées expérimentalement (Lehmann et al. 2003). Nous avons choisi de tracer les courbes de sensibilité pour  $K_1= 0.02$  et  $K_2= 0.02$  (ce qui correspond à  $w_1=w_2 \approx 12$  nm).



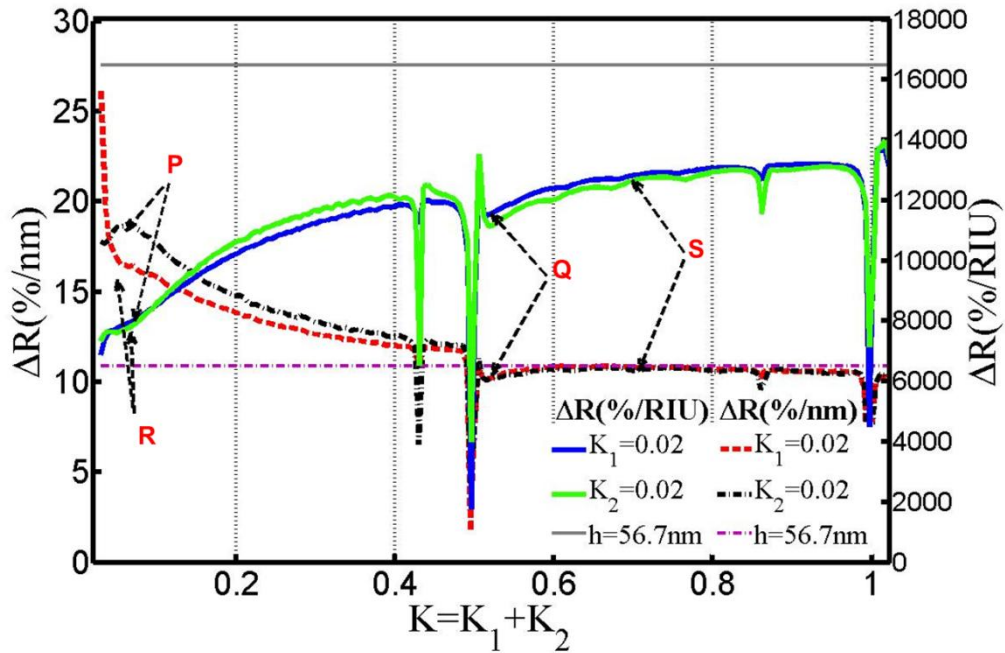


Figure 3. 22: Courbes extraites de la nappe de sensibilité à une couche biologique et de la nappe de sensibilité à un saut d'indice, en effectuant des sections verticales ce qui revient à fixer la valeur de  $K_1$  et des sections horizontales associées à  $K_2$  fixe. Les courbes en pointillés violets et gris indiquent respectivement la réponse d'une biopuce conventionnelle due à l'ajout d'une couche biologique  $\Delta R(\%/nm)$  et à une variation d'indice ambiant  $\Delta R(\%/RIU)$ . Le champ électromagnétique est calculé pour les configurations suivantes: P, Q, R et S (voir figure 3. 25).

#### a) Effet de la périodicité

La figure 3.22 montre que la diminution des dimensions des structures (période), se traduisant par des valeurs de  $K < 0.5$ , s'accompagne d'une réduction de la sensibilité à un saut d'indice  $\Delta R(\%/RIU)$ . En revanche elle engendre une amélioration de la sensibilité à une couche biologique  $\Delta R(\%/nm)$ . Nous attribuons cette amélioration de sensibilité au rôle des plasmons localisés PSL gouvernant ces structures. Ces interactions deviennent faibles en augmentant la période de la structure  $K > 0.5$ . Cependant, pour les grandes périodes, les structures deviennent semblables à l'or plat, favorisant ainsi le mode propagatif, d'où la sensibilité d'une biopuce structurée proche de celle d'une biopuce conventionnelle. Nous allons détailler dans la section suivante, séparément, l'effet de la largeur de la structure et l'effet de la distance entre les structures.

#### b) Effet de la largeur de la structure ( $K_2=0.02$ , $K_1$ est variable)

Prenons le premier cas où nous fixons la distance entre les structures  $K_2=0.02$  et faisons varier  $K_1$ . L'évolution de la sensibilité  $\Delta R(\%/RIU)$  et  $\Delta R(\%/nm)$  est due à une réduction considérable de la profondeur de pénétration de l'onde de plasmons dans le diélectrique grâce aux différents couplages PSL entre les différents modes associées au coin d'une structure ainsi qu'aux couplages PSL - PSL entre les structures voisines (Figure 3. 23). En effet,  $\Delta R(\%/nm)$  atteint un maximum (configuration Q dans la figure 3.22) pour  $K_1=0.045$  avec une réponse de 18.54 ( $\%/nm$ ). Pour des valeurs de  $K_1$  faible ( $K_1 < 0.045$ ) les petites structures ne peuvent pas maintenir les plasmons localisés.

Quand la largeur de la structure augmente  $K_1 > 0.045$ , le couplage entre les modes localisés associés aux coins supérieurs d'une structure individuelle devient moins efficace et sont en partie découplés (Figure 3. 23). Au fur et à mesure que la structure devient de plus en plus large formant ainsi une configuration fente (groove), l'interaction entre les PSL et l'onde plasmon propagative PP est favorisée et par conséquent un mode hybride, dû à l'interaction entre les plasmons localisés et les plasmons propagatifs (PSL-PP), domine. En conséquence, La sensibilité du capteur structuré s'approche de celle d'un capteur conventionnel (Hao and Schatz 2004).

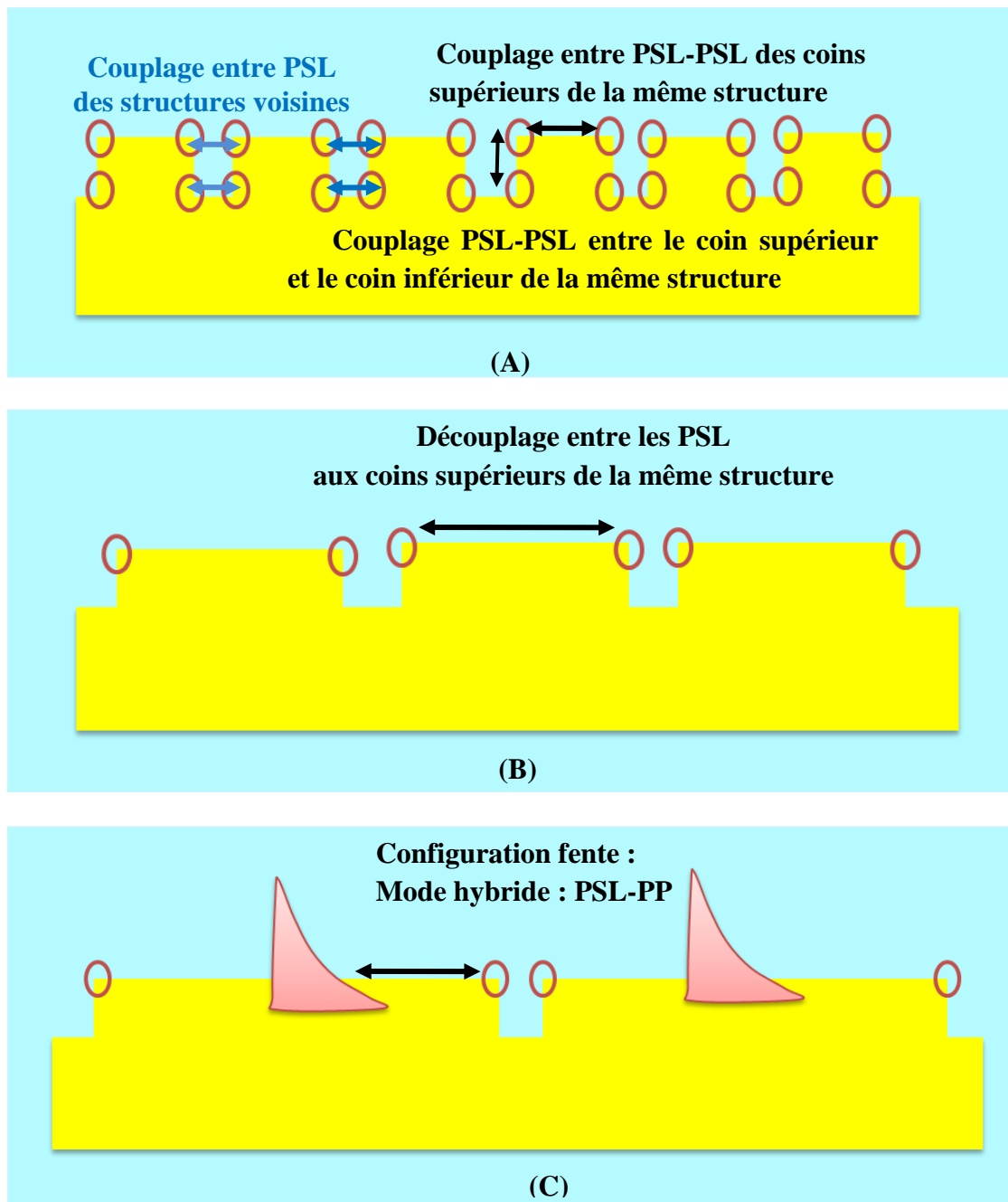


Figure 3. 23: Schéma soulignant l'effet de la largeur de la structure et montrant la transition de la configuration où le mode PSL domine vers une configuration fentes où le mode PP domine.

*c) Effet de la distance entre les structures ( $K_1=0.02$ ,  $K_2$  est variable)*

Dans le deuxième cas, nous fixons la largeur de la structure  $K_1=0.02$  et nous faisons varier la distance entre les structures  $K_2$  (Figure 3. 24). La sensibilité à une couche biologique en terme de  $\Delta R$  (%/nm) associée à des biopuces avec des faibles distances de séparation entre les structures est supérieure à celle de la réponse d'une biopuce conventionnelle. Ce comportement est expliqué par la diminution de la distance entre les structures qui favorise non seulement les couplages entre les plasmons localisés PSL-PSL au sein de la même structure, mais aussi les interactions PSL entre les nanostructures voisines. Au fur et à mesure que la distance entre les structures augmente, tendant vers des configurations pistes (ridges), les interactions PSL entre les nanostructures voisines deviennent graduellement moins efficaces. Le comportement dominant est semblable à l'excitation des PSL par une nanostructure unique. Il en résulte que le couplage entre PSL et PP est le phénomène dominant, comparé aux interactions entre les structures consécutives. Par conséquent, la sensibilité s'approche de celle d'une biopuce conventionnelle.

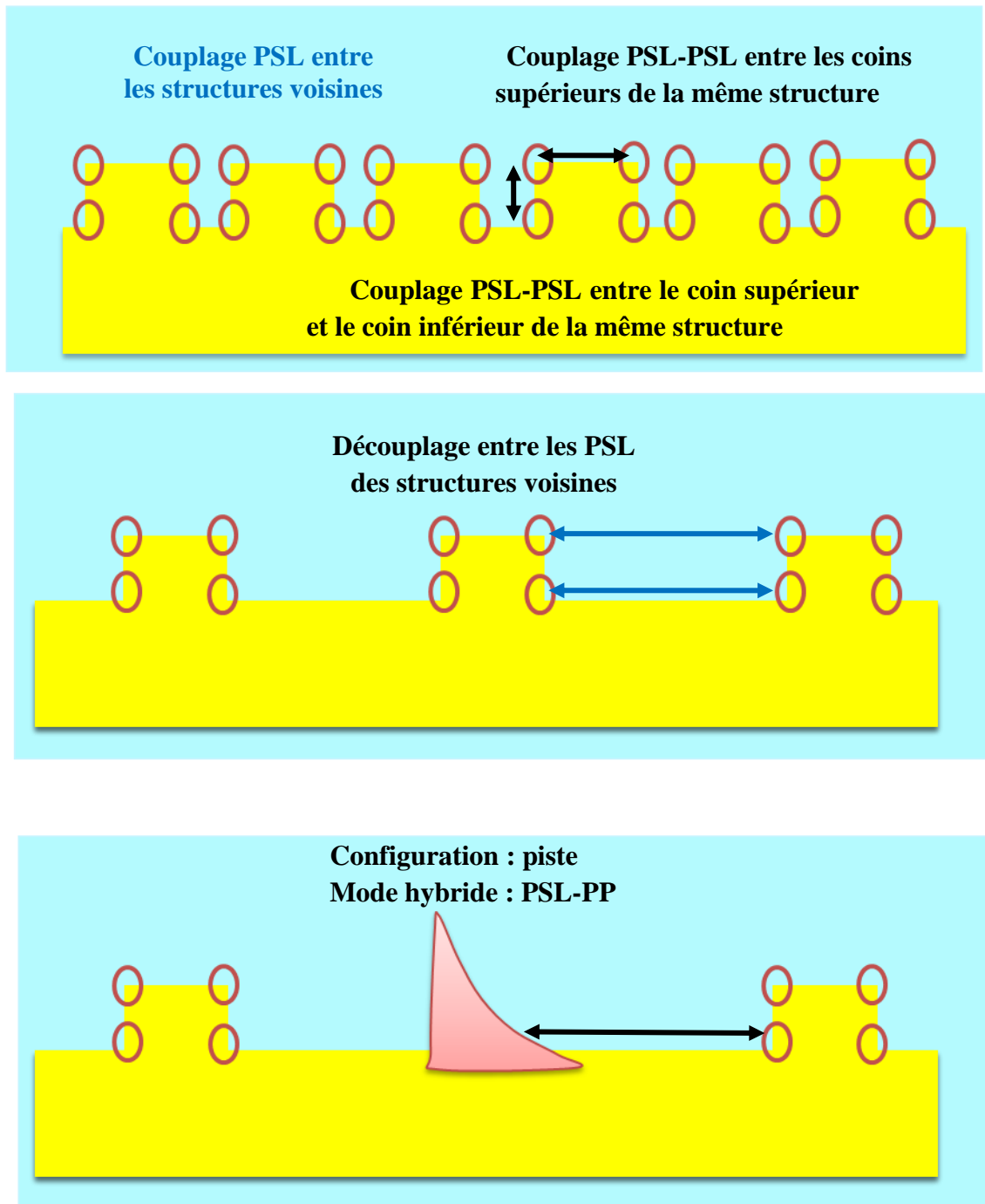


Figure 3. 24: Schéma soulignant l'effet de la distance entre les structures, et montrant la transition de la configuration où le mode PLS domine vers une configuration fentes où le PP domine.

#### 3.1.3.3.3. *Calcul du champ électrique*

Afin de comprendre ces différents mécanismes de couplage, nous présentons dans la figure 3. 25 (à gauche) le vecteur de Poynting pour chaque structure P, Q, R et S de la figure 3. 22, nous examinons également le champ électrique proche de la structure en traçant l'amplitude normalisée de la composante z du champ électrique ainsi que des coupes à 1 nm en dessus de la surface pour chaque structure.

Nous observons tout d'abord que si on s'éloigne de la structure (piste ou fente) pour la configuration P ou Q, l'intensité du champ électrique est d'environ 3.4 u.a.. Cette valeur est proche de celle d'une propagation des plasmons sur une surface d'or plane avec une hauteur  $h_2 = 64.2$  nm et de même en configuration S l'intensité de E est de 5 u.a., similaire à une surface d'or plane de hauteur 49.2 nm. Nous notons que, pour une structure fente (P ou Q), le vecteur de Poynting est semblable à celui d'une surface d'or plane avec une faible perturbation par la structure.

A l'inverse, dans la configuration piste (R ou S), le flux du vecteur de Poynting est fortement perturbé autour de la crête. Dans toutes ces configurations, nous constatons (figure 3. 25 (droite)) une exaltation du champ électrique sur les coins supérieurs et inférieurs des structures en raison du couplage des modes PSL à l'intérieur de la même structure, entre les structures voisines ou avec le PP. Cependant, l'efficacité et l'étendue de ces couplages varient pour les différentes configurations étudiées ici. À titre d'exemple, la diminution de l'intensité du champ électrique associé au coin supérieur de la structure, lors du passage de la configuration de la configuration P vers la configuration Q, s'explique par l'augmentation de la largeur de la structure et du découplage entre les modes PSL confinés sur les coins supérieurs. Dans la configuration Q, en se positionnant loin de la fente, le phénomène dominant est le PP. Celui-ci peut se propager sur une distance plus longue comparée à la configuration P. Par conséquent, le couplage entre le LSP-PP est plus efficace ce qui conduit donc à une augmentation de l'intensité du champ électrique dans les coins inférieurs par rapport à la configuration P. Similairement au cas précédent, lorsque la distance entre les pistes augmente (de la configuration R à S), le couplage entre le LSP et PP devient donc le phénomène dominant par rapport aux phénomènes d'interaction entre deux structures consécutives. Cela tend donc vers le comportement d'une nanostructure unique, avec une augmentation importante du champ électrique local.

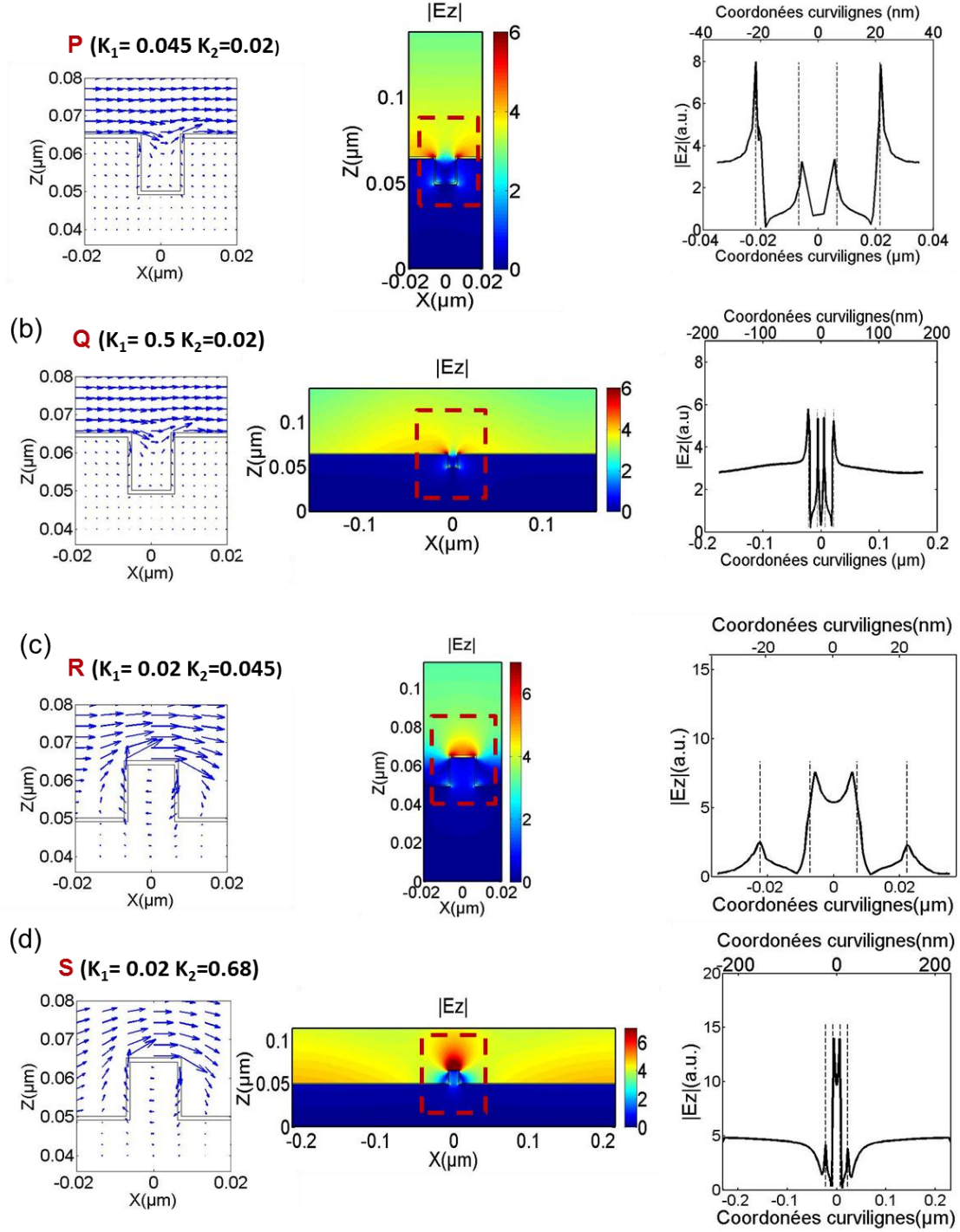


Figure 3. 25: Cartes de la composante z du champ électrique  $|E_z|$ . (Droite) vecteur de Poynting mettant en évidence le sens du flux d'énergie. (Gauche) Coupes horizontales du champ électrique suivant les coordonnées curvilignes, à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique correspondant successivement à la configuration P ( $K_1 = 0.045$ ,  $K_2 = 0.02$ ,  $K = 0.065$ ) et à la configuration Q ( $K_1 = 0.5$ ,  $K_2 = 0.02$ ,  $K = 0.52$ ), R ( $K_1 = 0.02$ ,  $K_2 = 0.045$ ,  $K = 0.065$ ) et à la configuration S ( $K_1 = 0.02$ ,  $K_2 = 0.068$ ,  $K = 0.7$ ).

#### 3.1.3.3.4. Étude de la réflectivité

Afin de mettre en évidence la correspondance entre le comportement de la sensibilité et celui de la réflectivité, nous avons calculé la réflectivité en fonction de  $K$  et de l'angle



d'incidence pour la configuration qui correspond à  $K_1=0.02$  (Figure 3. 26). Similairement à la réflectivité antérieurement calculée pour des structures micrométrique, la présence du réseau engendre une déformation de la propagation des plasmons de surface sous la forme de l'existence des bandes interdites pour des valeurs de  $K$  correspondant à des entiers ou bien des demi entiers. Cette configuration se démarque par l'augmentation brutale de l'angle de résonance pour  $K < 0.5$  par rapport aux nappes de réflectivité de la figure 3. 18. Ceci prouve encore que cette région est dominée par les PSL et confirme ainsi que la transition vers le régime où le plasmon de surface domine se fait pour une valeur  $K = 0.5$ .

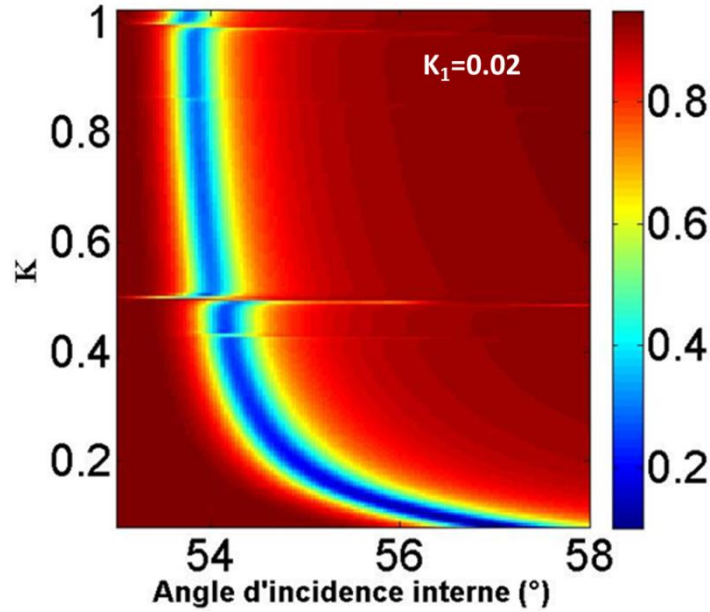


Figure 3. 26: Réflectivité TM/TE tracée en fonctions des angles internes et en fonction de  $K$  en fixant la valeur  $K_1=0.02$ .

#### 3.1.4. Généralisation

Les calculs précédents ont mis l'accent sur l'effet de la périodicité ainsi que l'impact de  $w_1$  et  $w_2$  sur la réponse d'une biopuce structurée tout en fixant  $h_1$  et  $h_2$  (ce qui revient à fixer  $\Delta h$  à 15 nm). Afin d'examiner l'influence de la variation de la hauteur de la structure sur le comportement de la sensibilité à une couche biologique d'une biopuce structurée, nous avons donc choisi, dans un deuxième temps, de varier la valeur de  $\Delta h$  de 5nm à 35nm, ce qui revient à varier aussi les valeurs de  $h_1$  et  $h_2$ . Le choix du couple  $h_1$  et  $h_2$  est effectué de manière à ce que la sensibilité d'une biopuce conventionnelle d'épaisseur métallique  $h_1$  ou  $h_2$  reste la même. Ces hauteurs existent de part et d'autre, par rapport à la valeur de l'épaisseur métallique optimale. (Figure 3. 27).

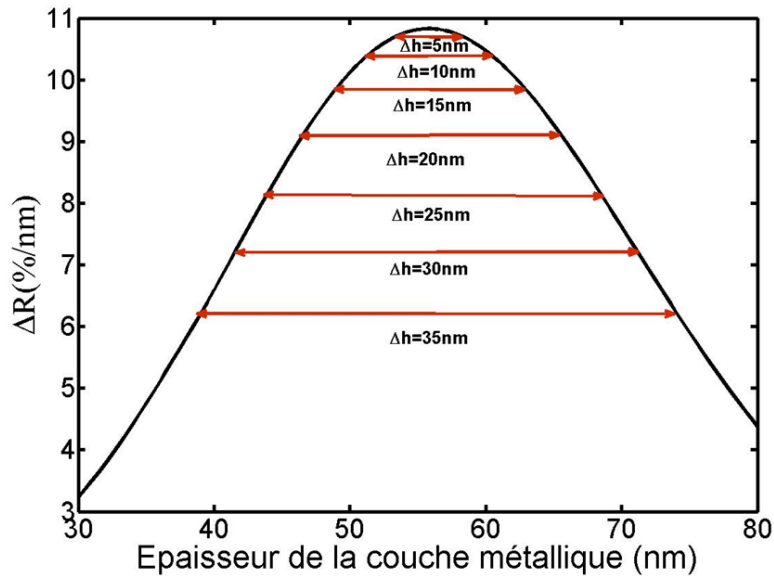


Figure 3. 27: Courbe de sensibilité, calculée à une longueur d'onde incidente 850 nm pour une configuration basée sur un prisme SF10 et une couche métallique, due à l'accrochage de 1 nm d'une couche biologique. La sensibilité est tracée en fonction de l'épaisseur du film d'or. Les différentes valeurs de  $\Delta h$  définissent un couple  $h_1, h_2$  de telle manière qu'une biopuce conventionnelle avec une épaisseur  $h_1$  ou bien  $h_2$  ait la même valeur de sensibilité.

Nous examinons l'effet des variations de ces hauteurs sur la sensibilité de la biopuce suivant la direction diagonale de la nappe (Figure 3. 7) ayant comme équation  $w_1 = w_2$  (donc  $K_1 = K_2$ ), étant donné qu'elle coupe une grande partie du domaine nanométrique et du domaine micrométrique étudiés. Les différentes courbes de sensibilité (Figure 3.28) montrent que la réponse en terme de  $\Delta R$  (%/nm) d'une biopuce est affectée par la variation de la valeur de la profondeur de la structure  $\Delta h$ . En effet, dans la région micrométrique où  $w_1 + w_2 > 0.5\lambda_{SP}$ , la sensibilité augmente si la valeur de  $h_2$  s'approche de la hauteur optimale d'une biopuce conventionnelle. Il est intéressant, de signaler que le phénomène de Bragg est dominant sur toutes les courbes. En revanche, la variation de  $\Delta h$  n'influe pratiquement pas sur la position de la bande interdite. Si nous nous intéressons à la région nanométrique où  $w_1 + w_2 < 0.5 \lambda_{SP}$ , l'effet de la variation  $\Delta h$  paraît plus compliquée. Cet effet sera détaillé dans le chapitre suivant.

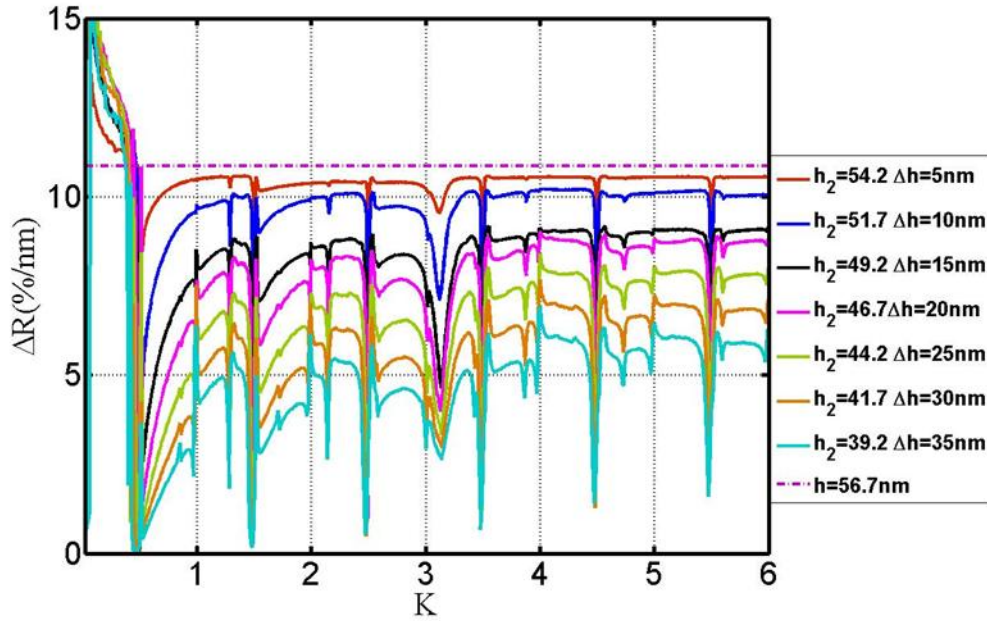


Figure 3. 28: Coupes de sensibilité d'une surface nano- micro-structurée en terme de  $\Delta R$  (% / nm) correspondant à la diagonale de la nappe ayant comme équation  $w_1 = w_2$  (donc  $K_1 = K_2$ ). Les différentes courbes sont tracées en variant la profondeur de la structure  $\Delta h$  de 5nm à 35 nm. La courbe en pointillé violet indique la sensibilité d'une surface non structurée pour une épaisseur optimale de la couche d'or de 56.7 nm.

Comme nous l'avons vu dans la première partie de ce chapitre, les résultats théoriques obtenus sur l'effet de la structuration 2D de la surface d'une biopuce à lecture plasmonique sont prometteurs : ils ont permis non seulement de déterminer des configurations optimales pour le « design » de la surface métallique mais aussi d'étudier le continuum de nano- et micro-réseau ce qui permet de mieux décrire la transition entre le régime plasmon propagatif vers le régime plasmon localisé. Nous validons et complétons cette étude par une démarche expérimentale, en restant dans la même optique. Concrètement, cette démarche consiste tout d'abord à réaliser et ensuite à caractériser un premier échantillon d'une puce structurée qui intègre plusieurs réseaux avec différentes dimensions variant du micromètre vers le nanomètre.

### 3.2. Étude expérimentale de la réponse d'une biopuce 2D structurée

Nous décrivons dans cette section le design de la puce fabriquée. Ensuite, les différentes étapes de l'élaboration de cette puce par la technique de lithographie à faisceau d'électrons focalisés sont décrites. Nous détaillerons par la suite le déroulement de l'expérience permettant, à l'aide du banc d'Imagerie de Résonance de Plasmons de Surface, la caractérisation simultanée de la réponse des différentes zones structurées, en terme de réflectivité et en terme de sensibilité à une couche biologique ou à la variation d'indice. Ceci permet une étude comparative étant donnée la caractérisation simultanée des zones structurées sous les mêmes conditions expérimentales. Ce premier exemple de puce permet non seulement de valider les capacités de notre instrument mais aussi de valider nos résultats numériques.

### 3.2.1. Conception des réseaux par lithographie électronique

L'étude expérimentale des propriétés plasmoniques ainsi que le potentiel de détection des biopuces passe d'abord par le « design » de notre échantillon. Nous définissons le motif sur la surface de la puce de manière à intégrer plusieurs zones structurées offrant ainsi la possibilité de caractériser plusieurs réseaux micro-nano-structurés simultanément. L'une des méthodes capables de fabriquer des échantillons à l'échelle micrométrique est la lithographie optique par ultra-violet (UV), néanmoins, elle ne permet pas d'atteindre des dimensions nanométriques étant donnée sa limitation par les effets de diffraction. Notre puce structurée est donc fabriquée avec une autre méthode: la lithographie électronique.

Sur la surface de la lame d'or, nous avons conçu, en collaboration avec Anne-lise Coutrot, le « design » du motif structuré. Ce motif est constitué de 4 matrices, chacune étant composée de 5 x 5 zones où chaque zone est un carré de  $300 \times 300 \mu\text{m}^2$ . La distance qui sépare deux zones est de  $\sim 200 \mu\text{m}$ . Un réseau périodique est intégré dans chaque zone avec les dimensions des réseaux qui varient d'une zone à une autre. La figure 1-c présente les différentes dimensions du motif. Pour chaque matrice, la valeur  $w_2$  de la distance entre les structures du réseau est fixée ( $w_2=200 \text{ nm}$ ,  $w_2=400 \text{ nm}$ ,  $w_2=600 \text{ nm}$ ,  $w_2=800 \text{ nm}$ ). Une fois nous avons fixé la valeur de  $w_2$  au sein de la matrice, la valeur de la largeur du réseau  $w_1$  dans chaque zone varie de  $50 \text{ nm}$  à  $3000 \text{ nm}$ . Jouer sur  $w_1$  revient à varier la période du réseau qui a un rôle majeur sur la réponse de la puce. Les hauteurs de la structuration sont choisies suivant les paramètres de la simulation numérique préalablement définie dans la section précédente. La seule différence par rapport à la structure déjà étudiée consiste en l'utilisation d'un substrat BK7 et d'une couche de titane de  $\sim 4.6 \text{ nm}$  pour le bon accrochage de l'or sur le substrat.

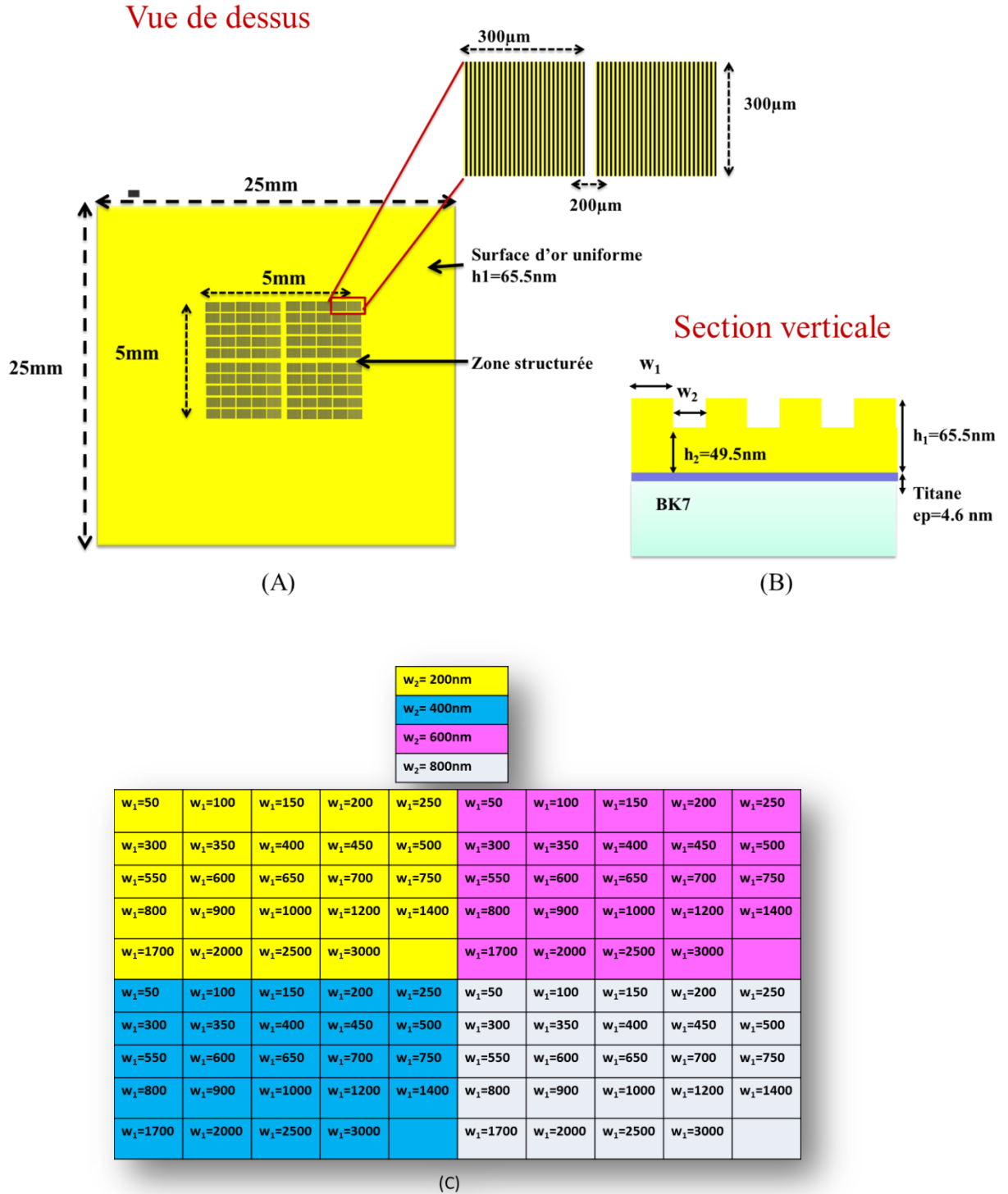


Figure 3. 29 : (A)-Vue de dessus d'une puce structurée. Le « design » de la puce fait apparaître un motif structuré  $5 \times 5\text{mm}^2$  composé de 4 matrices, chacune est composée de  $5 \times 5$  zones. Un agrandissement montre que chaque zone est un carré de  $300 \times 300 \mu\text{m}^2$ , et la séparation entre deux zones est de  $\sim 200 \mu\text{m}$ . (B)-Une section verticale illustre un exemple d'un réseau structuré avec des hauteurs caractéristiques ( $h_1=65.5 \text{ nm}$ ,  $h_2=49.5 \text{ nm}$ ) posé sur un substrat de verre en BK7 avec une couche de titane intercalée entre les deux. (C)-Chaque zone structurée est caractérisée par un réseau possédant des dimensions codées suivant le tableau : chaque couleur correspond à une matrice qui définit la valeur de  $w_2$  (nm) et chaque case correspond à la valeur  $w_1$  (nm). Les cases vides dans le tableau sont des références désignant les zones non structurées dans le but de mesurer le plasmon de surface sur de l'or plat avec une épaisseur de  $49.5 \text{ nm}$ .

### 3.2.2. Procédé de fabrication

La réalisation de l'échantillon est effectuée selon un procédé classique de lithographie électronique-gravure, dont les différentes étapes sont décrites à la figure 3. 30 ci-dessous. L'échantillon a été obtenu par Anne-Lise Coutrot au sein de la salle blanche de la Plate-Forme de Technologie Commune IOGS/Thales/École Polytechnique hébergée au sein de Thales TRT.

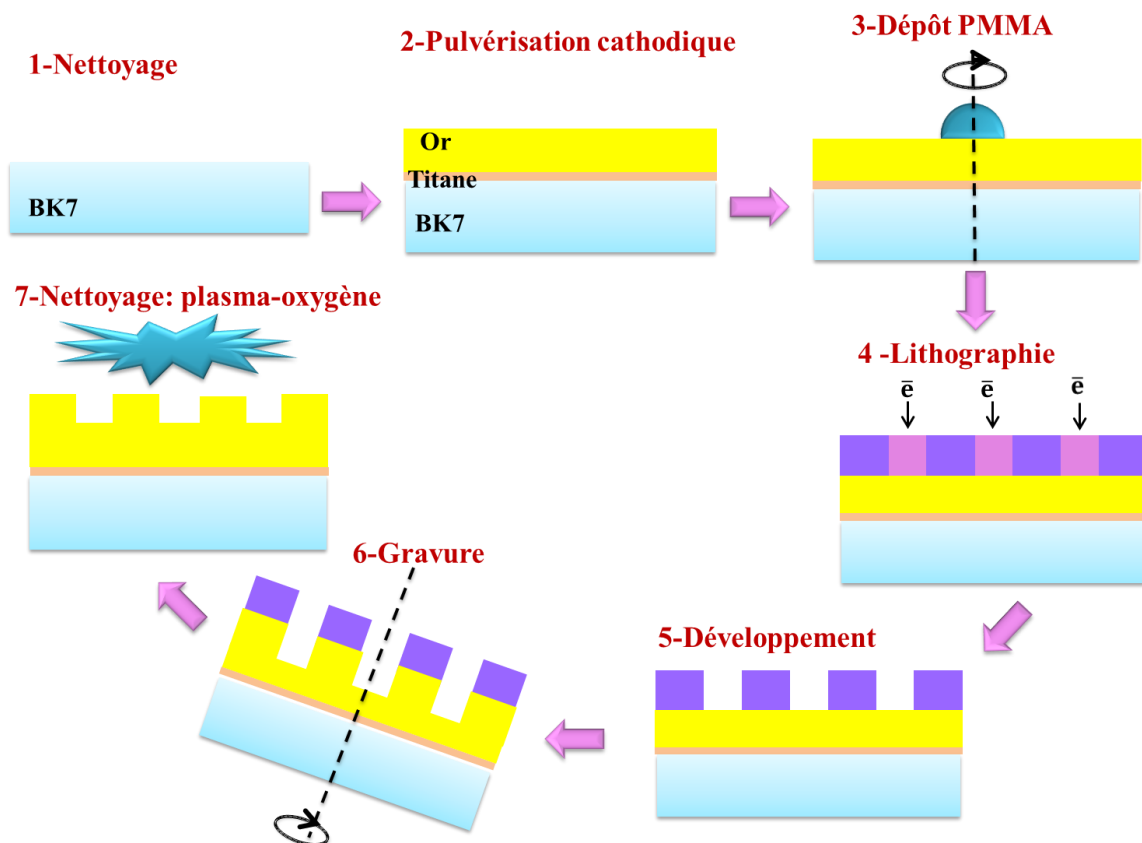


Figure 3.30 : Procédé de fabrication d'un réseau or/or

\* La première étape consiste à effectuer un nettoyage soigneux de l'échantillon afin d'assurer le bon déroulement des différentes étapes du procédé. En effet, la présence d'une poussière ou de traces d'humidité à la surface de l'échantillon peut durablement altérer la qualité des dépôts métalliques ultérieurs et provoquer la détérioration des réseaux obtenus. Le substrat de verre est immergé durant 10 minutes dans un mélange d'acide sulfurique et d'eau oxygénée dans les proportions volumiques 1:1 (mélange "Piranha"). Le substrat est ensuite longuement rincé dans de l'eau désionisée puis séché sous azote. Le substrat est par la suite plongé durant 5 minutes dans l'isopropanol sous agitation ultra-sonique, rincé avec de l'isopropanol propre puis de nouveau séché à l'azote.

\* Dans une deuxième étape, 4.5 nm de titane et 65.5 nm d'or sont déposés sur l'échantillon par pulvérisation cathodique (200W/6mTorr/1min puis 200W/8mTorr/1min19sec). Le titane est ici indispensable afin d'assurer une bonne adhésion du film d'or.

\* L'échantillon est tout d'abord chauffé à 160 °C sur plaque-chauffante afin d'évacuer toute trace d'humidité résiduelle, puis enduit sur la tournette (enduction centrifuge à 3000 tours/min durant 30 secondes) de PMMA, polymère électro-sensible positif. L'échantillon est ensuite "recuit" sur plaque chauffante à 160°C pendant 5 minutes, ce qui permet l'évaporation d'une certaine quantité de solvant contenu dans le film de PMMA. Ces conditions d'enduction permettent d'obtenir un film homogène d'environ 360 nm d'épaisseur.

\* L'étape de lithographie, ici électronique, va permettre de transférer le motif désiré dans le film de PMMA en le modifiant localement sous le faisceau d'électrons, selon un dessin établi auparavant. L'écriture est réalisée sur la machine NanoBeam Limited nB3 avec une dose (quantité de charges surfacique) moyenne de 5 C/m<sup>2</sup>. Cette valeur est variable en fonction des dimensions des motifs et du fait que l'échantillon soit métallique, elle doit être soigneusement adaptée pour compenser les « effets de proximité » qui sont consécutifs à la présence d'une forte quantité d'électrons rétro-diffusés et qui induisent une surexposition locale de la résine (et donc une baisse de résolution des motifs).

\* La révélation des motifs ou développement est effectuée en trempant l'échantillon dans une solution de MIBK (Méthylisobutylcétone) et d'isopropanol dans des proportions volumiques 1 pour 3 pendant 1 minute en agitant manuellement puis en le rinçant dans l'isopropanol pendant 15 secondes. Les zones qui ont été soumises au faisceau d'électrons vont ainsi être dissoutes.

\* L'échantillon est ensuite gravé par IBE (Ion Beam Etching : gravure par faisceau d'ions) : les zones non recouvertes par la résine sont soumises au faisceau d'ions afin de transférer le motif dans le métal. La gravure est effectuée dans une machine Plassys MU600S à une densité de courant de 0,8 mA/cm<sup>2</sup> pour un angle d'incidence de 20° et à une température du porte-substrat de 20°C. Les marches d'or obtenues sont de l'ordre de 19 nm. Cette valeur est moyenne car la gravure ne s'effectue pas à la même vitesse selon les dimensions du motif.

\* Enfin, le masque de PMMA ayant été réticulé par l'exposition au faisceau d'ions, il est difficile de le retirer au moyen d'une dissolution chimique. L'échantillon est soumis à un plasma d'oxygène pendant 10 minutes et les structures en or sont alors libérées.

Des résultats d'une telle procédure de fabrication sont présentés sur les images prises par Anne-Lise Coutrot en microscopie électronique à balayage (MEB).



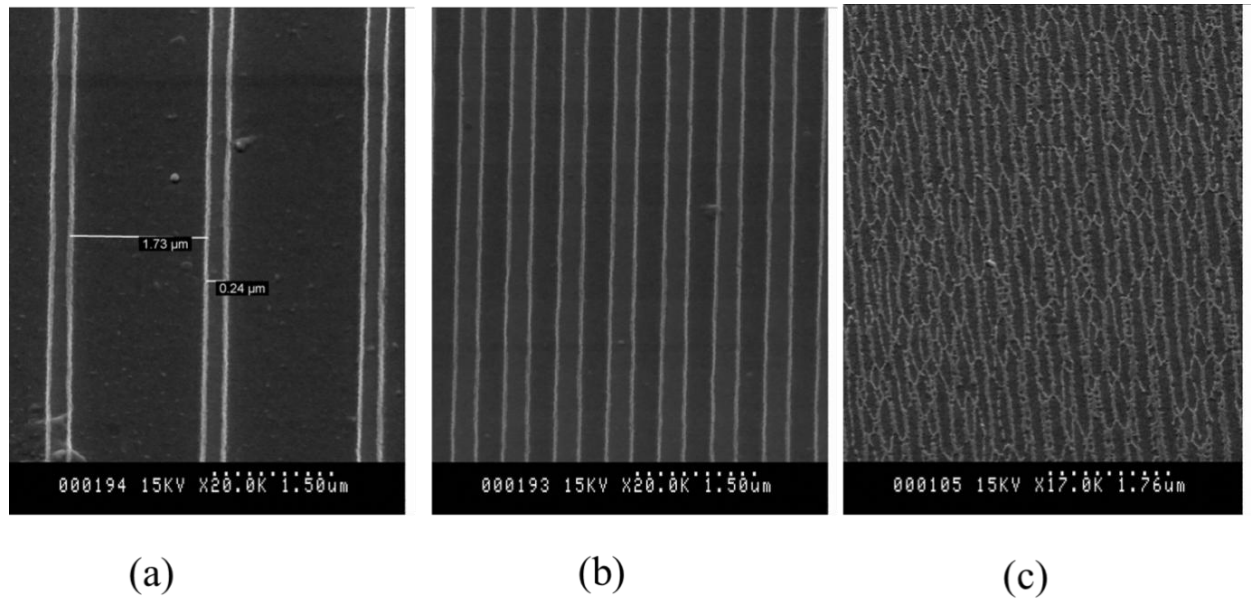


Figure 3.31 : Des images MEB pour différentes zones: (a)  $w_1=1730$  nm,  $w_2=240$ nm. (b)  $w_1 \approx 300$  nm,  $w_2 \approx 200$ nm. (c)  $w_1 \approx 50$  nm,  $w_2 \approx 200$ nm

Ces images montrent que la procédure permet la fabrication des réseaux réguliers (Figure 3.31(a)-(b)) avec des pistes séparées et continues, malgré l'existence de quelques îlots d'or. Nous verrons par la suite que ces petits îlots (rugosité de la surface) n'ont pas de conséquence sur la réponse optique du réseau mais peuvent influencer sur sa sensibilité à une couche biologique. En revanche, des défauts de fabrications sont très visibles (Figure 3.31(c)) pour des réseaux avec des pistes très petites  $\sim 50$  nm.

### 3.2.3. Caractérisation d'une surface structurée par IRPS : déroulement de l'expérience

Les instruments RPS mono-points sont capables de caractériser la réflectivité angulaire ou spectrale d'une seule zone structurée de la surface de la puce. Il est évident que l'étude de l'effet de la structuration de la surface, en variant les dimensions de la structuration, oblige les chercheurs à élaborer différentes puces, avec une zone structurée, par puce, ce qui est très coûteux. Notre dispositif expérimental offre la possibilité d'imager la surface et donc de caractériser, simultanément, différentes zones structurées de la puce. Les mêmes conditions expérimentales lors de la caractérisation des zones structurées diminuent les sources d'erreurs surtout dans une étude comparative entre la réponse de ces différentes zones. De plus, notre dispositif expérimental est capable, grâce à une source de lumière blanche couplée à un monochromateur et ces bras rotatifs, de prendre des images à chaque longueur d'onde pour chaque angle, ce qui permet de cartographier la nappe angulo-spectrale. Nous sommes capables de suivre précisément la position (angulaire et spectrale) de la bande interdite en fonction de la période du réseau.

Avant la caractérisation de chaque échantillon, nous commençons par une étape de nettoyage par un plasma à l'aide d'un système de plasmas froids d'oxygène (Electric diener, Allemagne) à une pression de 0.6 mbar et une puissance de 100 W afin d'enlever le reste de

PMMA sur l'échantillon et ensuite nous procédons un lavage à éthanol et enfin à l'eau pour s'assurer de la propreté de l'échantillon sans oublier de le sécher à l'air comprimé. Nous déposons ensuite la puce sur un prisme BK7 en utilisant une huile de même indice que le prisme.

L'échantillon est placé d'une manière à ce que la propagation des plasmons soit orthogonale à la direction du réseau. L'eau pure désionisée est par la suite injectée dans la cellule couvrant ainsi la surface de la puce. Nous stabilisons la température dans la cuve à 22°C.

Nous fixons la plage angulaire des mesures en angle externe entre 5° et 25° avec un pas angulaire de 0.4° (i.e. de 63.5° à 76° en angle interne). La longueur d'onde balaye une bande spectrale de 600 à 800 nm avec un pas spectral de 10 nm et une largeur à mi-hauteur de 6 nm.

L'acquisition d'une image en polarisation TM et d'une image en polarisation TE pour chaque angle et chaque longueur d'onde permet d'avoir une série d'images pour la plage angulo-spectrale considérée. La figure 3.32 montre une image résultante de la division d'une image acquise en polarisation TM par une image acquise en polarisation TE (référence).

Un post traitement sur Matlab permet le moyennage spatial (10 pixel x 10 pixel) sur une zone d'intérêt de l'image de la puce et ce qui permet de remonter à la réflectivité angulo-spectrale (en TM, en TE ou en TM/TE) de n'importe quel point d'une région structurée ou non structurée de la surface d'une puce.

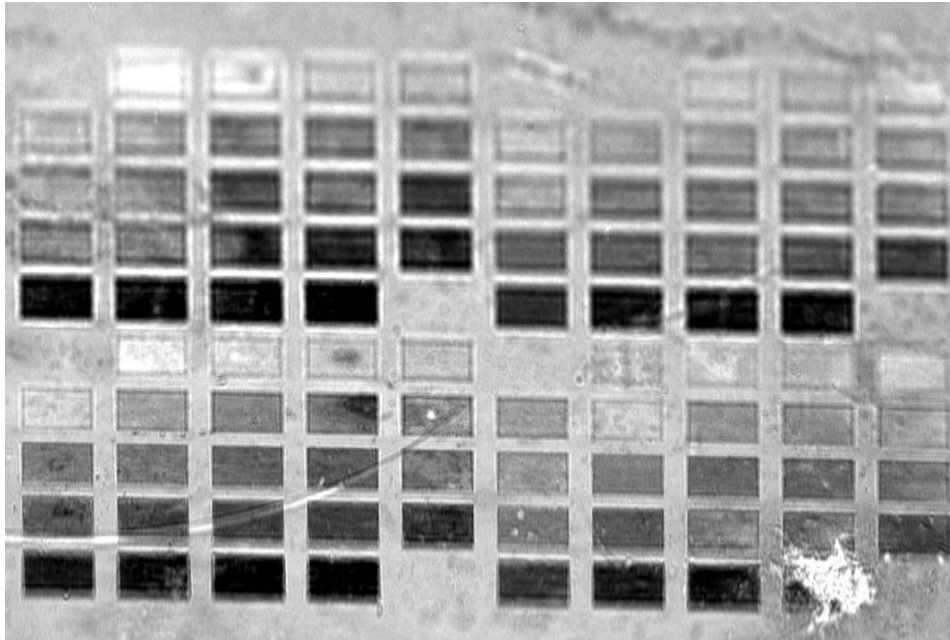


Figure 3. 33 Image SPR prise à 610nm et 71.8°.

Sans retirer la puce, nous injectons le glycérol 1% (d'indice de réfraction  $\approx 1.3345$ ) dans la cuve pour avoir un saut d'indice par rapport à l'eau de  $\Delta n = 1.5 \times 10^{-4}$ . De la même manière, nous pourrions remonter à la réflectivité angulo-spectrale. Pour une zone d'intérêt, la différence entre la nappe de réflectivité après l'injection de l'eau (nappe de référence) et la nappe de réflectivité après l'injection du glycérol permet de calculer la nappe angulo-spectrale de la variation de réflectivité engendrée par une variation d'indice du milieu aqueux.

Pour évaluer l'impact de l'accrochage d'une couche de biomolécules tel que l'albumine, nous préparons une solution contenant 2 mg de (BSA) «Bovin Serum Albumin» dans 2 ml d'une solution buffer pH=9. L'injection de cette solution pendant 10 minutes et l'acquisition des images permet de remonter de la même manière à la nappe angulo-spectrale de la variation de réflectivité engendrée par l'adsorption d'une couche de protéine sur la surface.

### 3.2.4. Résultats de la caractérisation optique

La figure 3. 33 présente une nappe expérimentale de réflectivité déterminée sur la région de la surface d'or uniforme (non structurée). La comparaison avec la nappe de réflectivité calculée par la méthode de Rouard pour une épaisseur d'or de 65.5 nm et une épaisseur de 4.5 nm de titane montre une similitude entre les deux nappes. En ajustant les coupes angulaires de réflectivité à une longueur d'onde fixe, nous avons remonté à l'épaisseur d'or réellement déposée, qui est de l'ordre de 70 nm et celle de titane qui est de l'ordre de 9 nm. Les épaisseurs déposées dépassent les épaisseurs demandées ce qui explique que la réflectivité ne chute que de 50%.

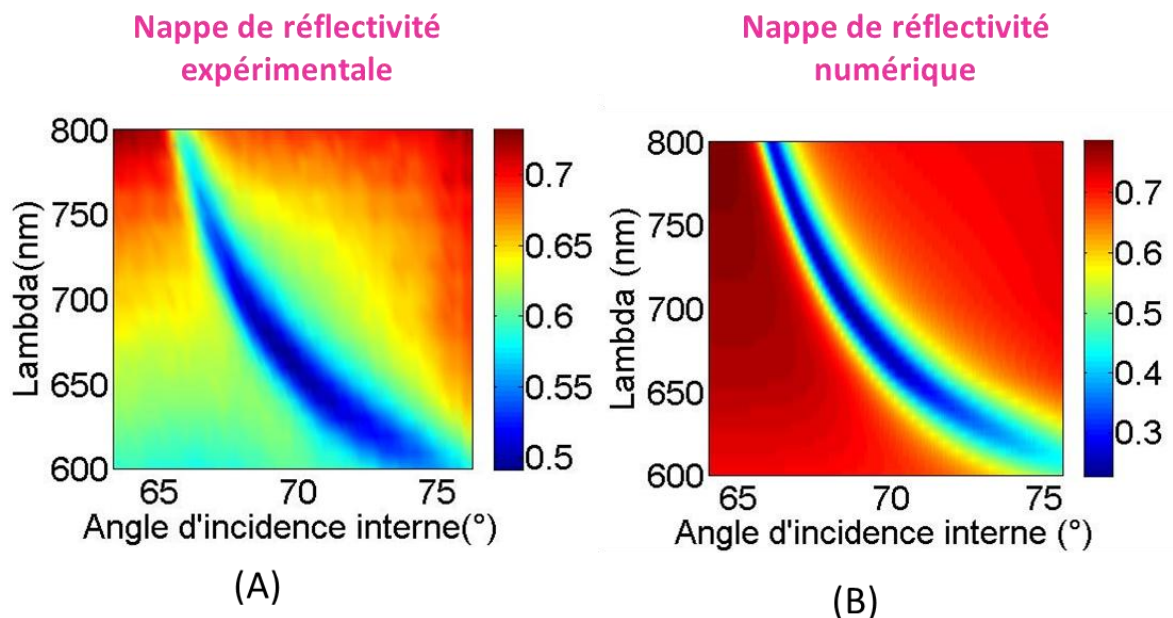


Figure 3. 33: (A) Nappe de réflectivité mesurée par le dispositif d'imagerie angulo-spectrale correspondante à la puce basée sur un prisme BK7. Les mesures sont effectuées avec un pas spectral de 10 nm et un pas angulaire de  $0.4^\circ$  (B) Nappe de réflectivité calculée par la méthode de Rouard. La simulation est effectuée avec un pas spectral de 5 nm et un pas angulaire de  $0.1^\circ$ .

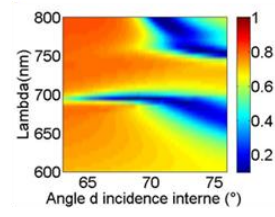
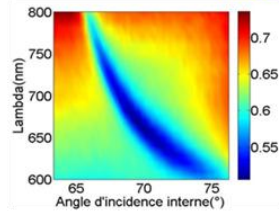
La figure 3. 34 présente des exemples de nappes de réflectivité angulo-spectrales mesurées expérimentalement pour différentes régions structurées intégrant des réseaux avec

des pistes perpendiculaires à la propagation du plasmon. Nous remarquons une correspondance entre les nappes expérimentales et celles numériques, calculées par la méthode hybride, sauf pour les structures avec une période inférieure à 500 nm (à titre d'exemple la configuration (A)  $w_1=50$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ). Pour le reste des configurations (B-C-D-E), la dispersion des plasmons est nettement caractérisée par l'existence d'une bande interdite. Ceci indique un couplage entre l'onde qui se propage et l'onde réfléchi par le réseau dans les conditions de Bragg. La position de cette bande interdite varie selon la valeur de  $w_1$ , par conséquent elle dépend de la période. L'existence d'une courbe de dispersion caractérisée par deux bandes interdites (configuration F) confirme les résultats théoriques précédemment discutés.

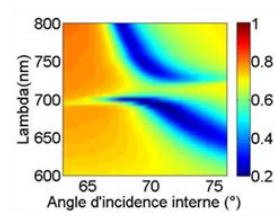
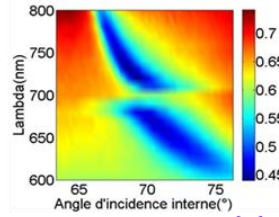
Nappes de réflectivité  
expérimentale

Nappes de réflectivité  
numérique

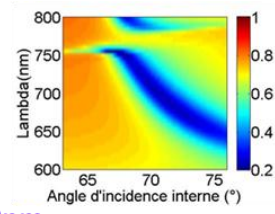
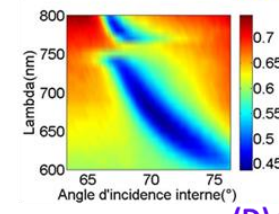
(A)  $w_1=50\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$



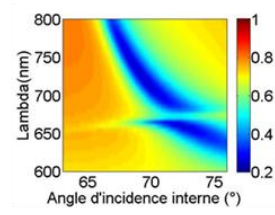
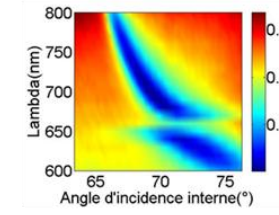
(B)  $w_1=300\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$



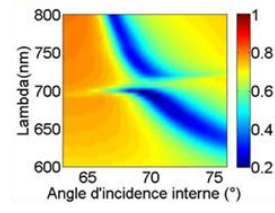
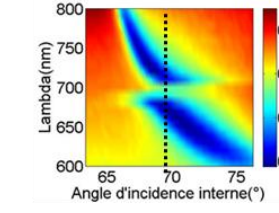
(C)  $w_1=350\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$



(D)  $w_1=500\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$



(E)  $w_1=550\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$



(F)  $w_1=1000\text{nm}$ ,  $w_2=400\text{nm}$

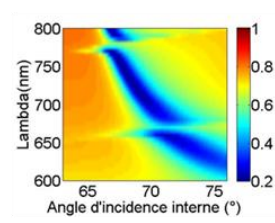
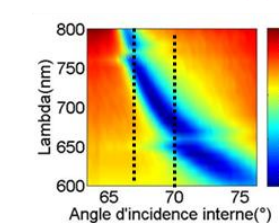


Figure 3. 34 (A droite) Nappes de réflectivité mesurées pour des zones caractérisées par différentes dimensions de structurations : A ( $w_1=50\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ), B ( $w_1=300\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ), C ( $w_1=350\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ), D ( $w_1=500\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ), E ( $w_1=550\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ), F ( $w_1=1000\text{nm}$ ,  $w_2=400\text{nm}$ ). Les mesures sont effectuées avec un pas spectral de 10 nm et un pas angulaire de  $0.4^\circ$ . (A gauche) Nappes de réflectivités calculées par la méthode hybride et associées aux configurations A-B-C-D-E-F. La simulation est effectuée avec un pas spectral de 5 nm et un pas angulaire de  $0.1^\circ$ .



Une coupe à  $69.3^\circ$  de la réflectivité mesurée, au niveau de la bande interdite de la configuration E ( $w_1=300\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ) permet de tracer la réflectivité spectrale et montre l'existence de deux pics de résonance spectrale (Figure 3. 35) l'un à  $676\text{ nm}$  et le deuxième à  $714\text{ nm}$ . La largeur de la bande interdite mesurée est donc  $\Delta\lambda = 38\text{ nm}$ . La courbe théorique qui ajuste le mieux est obtenue par les paramètres de simulation suivants :  $w_1=185\text{ nm}$ ,  $w_2=551\text{nm}$ ,  $h_1=70\text{nm}$ ,  $h_2=56\text{ nm}$ ,  $\Delta h=14\text{ nm}$ . Un bon accord entre la courbe de réflectivité théorique et les données expérimentales est ainsi obtenu. En effet, les deux courbes montrent une bande interdite centrée autour de  $698\text{ nm}$ . Néanmoins un petit décalage de l'ordre de  $10\text{ nm}$  entre la position théorique et expérimentale du premier pic de résonance est observé. La différence entre les valeurs de  $w_1$ ,  $w_2$ ,  $h_1$ ,  $h_2$  expérimentaux et celles théoriques demandées illustre les incertitudes lors du processus de fabrication.

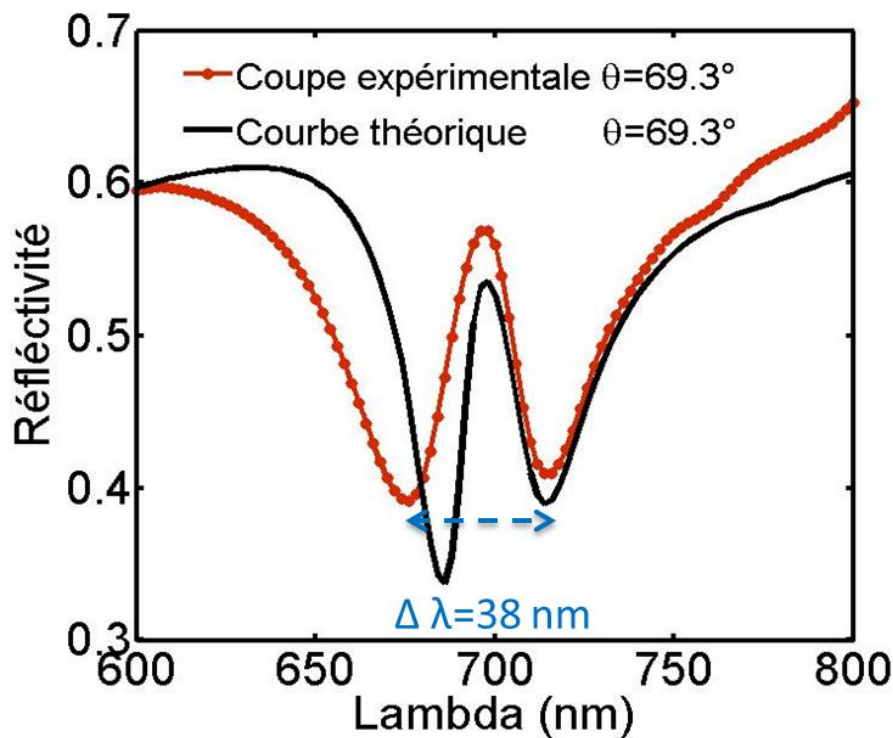


Figure 3. 35 Superposition d'une coupe spectrale à  $69.3^\circ$  de réflectivité mesurée (en rouge) et d'une courbe théorique (en noir) en utilisant les paramètres de simulation suivants :  $w_1=185\text{ nm}$ ,  $w_2=551\text{nm}$ ,  $h_1=70\text{nm}$ ,  $h_2=56\text{ nm}$ ,  $\Delta h=15\text{ nm}$ .

La configuration F ( $w_1=1000\text{nm}$ ,  $w_2=400\text{nm}$ ) est une configuration intéressante qui illustre l'existence de deux bandes interdites. Ce genre de configuration est peu abordé dans la littérature. Une coupe spectrale de la réflectivité à  $70.4^\circ$  au niveau de la première bande interdite de cette configuration est présentée par la figure 3.36. Les deux pics de résonance spectrale sont situés respectivement à  $648\text{ nm}$  et  $672\text{ nm}$ . La bande interdite est donc centrée autour de  $698\text{ nm}$  avec une largeur de  $24\text{ nm}$ . La position de ces deux résonances est confirmée par la simulation en utilisant les paramètres d'ajustement suivant :  $w_1=395$ ,  $w_2=985\text{nm}$ ,  $h_1=70\text{nm}$ ,  $h_2=56\text{ nm}$ ,  $\Delta h=14\text{ nm}$ . Une deuxième coupe spectrale de la réflectivité à  $66.5^\circ$  au niveau de la deuxième bande interdite est aussi tracée. Elle permet d'observer également deux pics de résonance : le premier à  $758\text{ nm}$  et le deuxième à  $788\text{ nm}$ . Ces pics sont moins profonds comparés à ceux de la première bande interdite puisqu'ils sont dus au

couplage entre l'onde plasmon de surface qui se propageant à l'interface métal-prisme et celle réfléchiée par le réseau. Ces deux résonances sont également observées dans la simulation en utilisant les mêmes paramètres d'ajustement que ceux de la première coupe. Les bandes interdites de la configuration F sont moins marquées que celles de la configuration E ceci confirme que le phénomène de Bragg devient moins efficace au fur et à mesure que les dimensions du réseau augmentent.

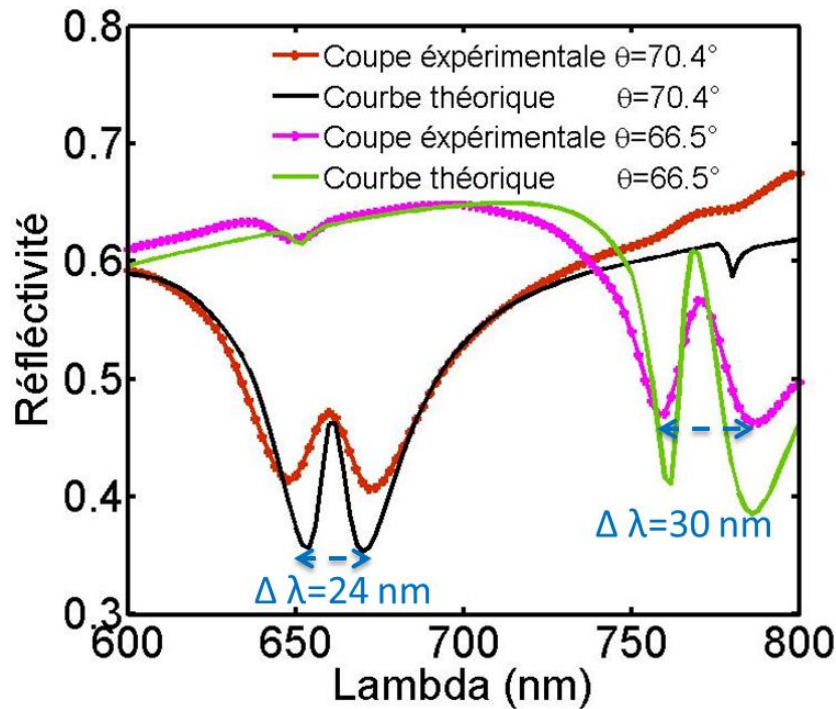


Figure 3. 36: Deux coupes spectrales de réflectivité mesurée : la première est effectuée à  $70.4^\circ$  (en rouge) et superposée avec sa courbe théorique d'ajustement (en noir) en utilisant les paramètres de simulation suivants :  $w_1=185$  nm,  $w_2=551$  nm,  $h_1=70$  nm,  $h_2=56$  nm,  $\Delta h=15$  nm. La deuxième est effectuée à  $66.5^\circ$  (en rose) et superposée avec la courbe théorique d'ajustement (en vert) en utilisant les mêmes paramètres de simulation.

Nous cherchons ici à évaluer la dépendance de la position de la bande interdite en fonction de la largeur de la structure  $w_1$  pour la première configuration avec  $w_2=200$  nm (Figure 3. 37-a) et la deuxième configuration avec  $w_2=400$  nm (Figure 3. 37-b). Nous nous sommes limités à  $w_1$  qui varie entre 250 nm et 900 nm, vu que c'est l'intervalle de dimensions de structures que nous avons étudié expérimentalement. Nous pouvons remarquer une correspondance entre la position théorique et expérimentale de la bande interdite. Nous pouvons confirmer que cette position dépend fortement de la valeur de  $w_1$  (par conséquent la valeur de la période). À une longueur d'onde fixée, à titre d'exemple 700 nm, la position de la bande interdite est périodique avec une période de  $\lambda_{sp}/2$  est qui vaut dans ce cas  $\approx 250$  nm.



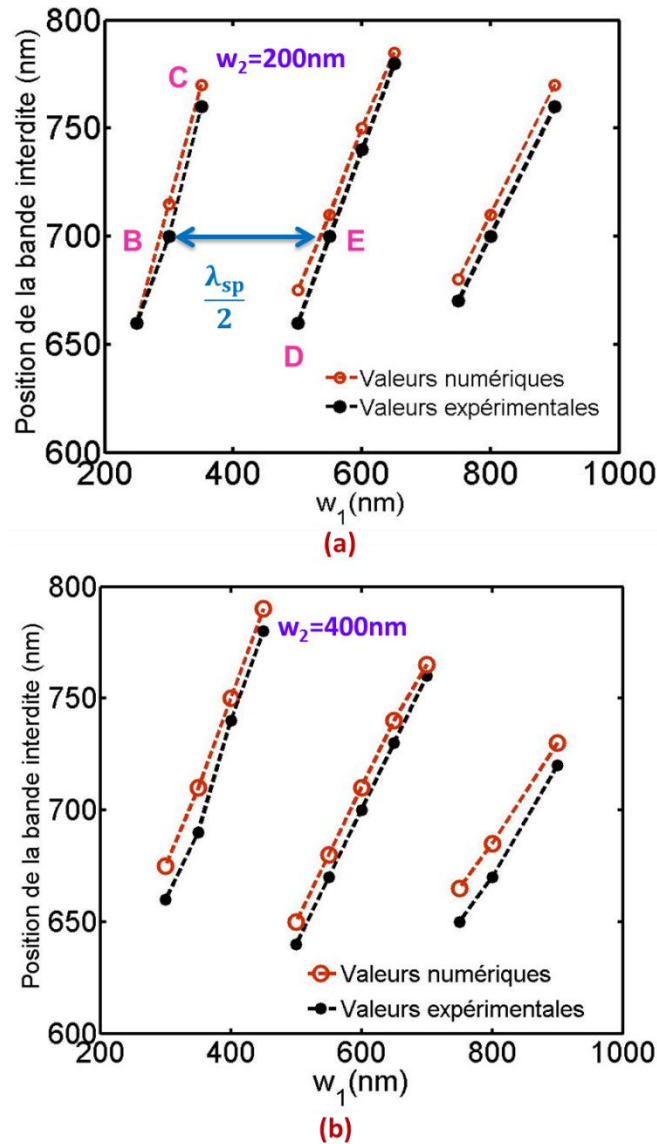


Figure 3.37: Les valeurs mesurées et celles numériques de la position de la bande interdite en fonction de la largeur de la structure  $w_1$  : (a) pour une configuration avec  $w_2=200$  nm (b) pour une configuration avec  $w_2=400$  nm. Les positions des bandes interdites des configurations B, C, D et E de la figure 3.34 sont indiquées

La figure 3.38 illustre deux exemples de nappes de variation de la réflectivité  $\Delta R(\%)$  induite par un saut d'indice  $\Delta n \approx 15 \times 10^{-4}$ , pour deux zones structurées associées à une configuration A ( $w_1=550$  nm,  $w_2=200$  nm) et une configuration B ( $w_1=1700$  nm,  $w_2=200$  nm). À titre comparatif, nous avons aussi extrait la nappe de  $\Delta R(\%)$  pour une zone non structurée C (Or plat d'épaisseur  $h_1$ ). Nous constatons qu'au niveau de la position de la bande interdite, associée à la configuration A et B, la valeur de  $\Delta R(\%)$  est presque nulle. La valeur maximale de  $\Delta R(\%)$  pour ces deux configurations est légèrement supérieure à celles de la zone non structurée, néanmoins il est plus important de la comparer ultérieurement avec la réponse d'une biopuce conventionnelle ayant une épaisseur optimale d'or. Malheureusement avec cet échantillon nous n'avons pas une bonne prise de BSA (la protéine ne s'est pas bien accrochée).

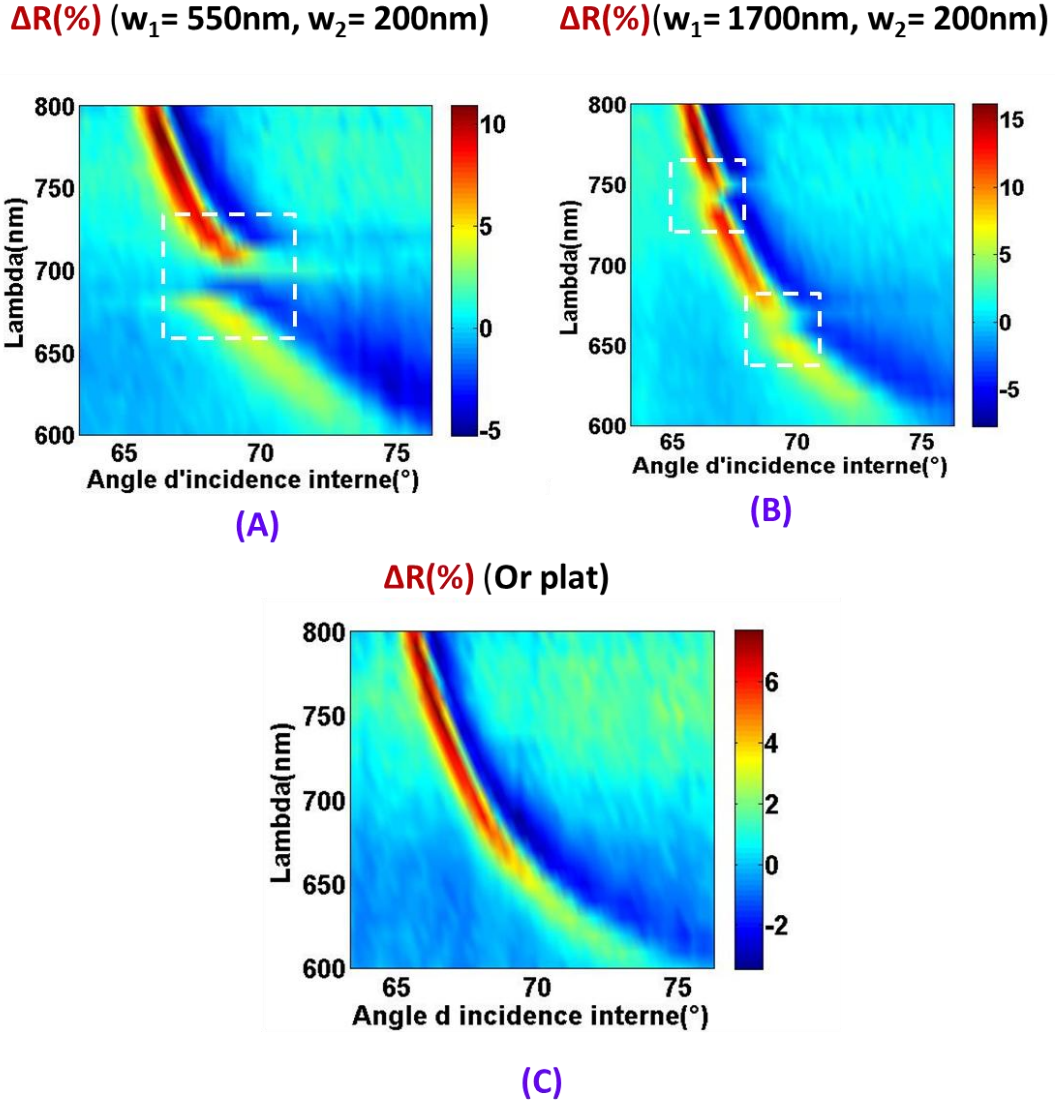


Figure 3. 30: Variation de la réflectivité  $\Delta R$  (%) pour deux zones structurées : A ( $w_1=550\text{nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ) et B ( $w_1=1700\text{ nm}$ ,  $w_2=200\text{nm}$ ). (C) Variation de la réflectivité  $\Delta R$  (%) pour l'or plat d'épaisseur  $h_1$ . Le carré en pointillé indique la position d'une  $\Delta R \approx 0$  due à l'existence d'une bande interdite.

Nous présentons dans la figure 3. 39 un exemple de nos résultats obtenus sur un deuxième échantillon basé sur SF10. La variation de réflectivité  $\Delta R$  (%) suite à l'accrochage d'une couche de BSA pour une zone structurée ( $w_1=700\text{nm}$ ,  $w_2=400\text{nm}$ ) ainsi que la comparaison avec la nappe variation de réflectivité pour l'or plat d'épaisseur  $h_1$  prouve également que la sensibilité se dégrade au niveau de la bande interdite. La valeur maximale  $\Delta R$  (%) est aussi supérieure à la réponse de la zone de référence (or plat d'épaisseur  $h_1$ ). Cependant, nous n'avons pas de moyen à notre disposition pour s'assurer que la BSA a été adsorbée d'une manière homogène sur la surface du réseau.

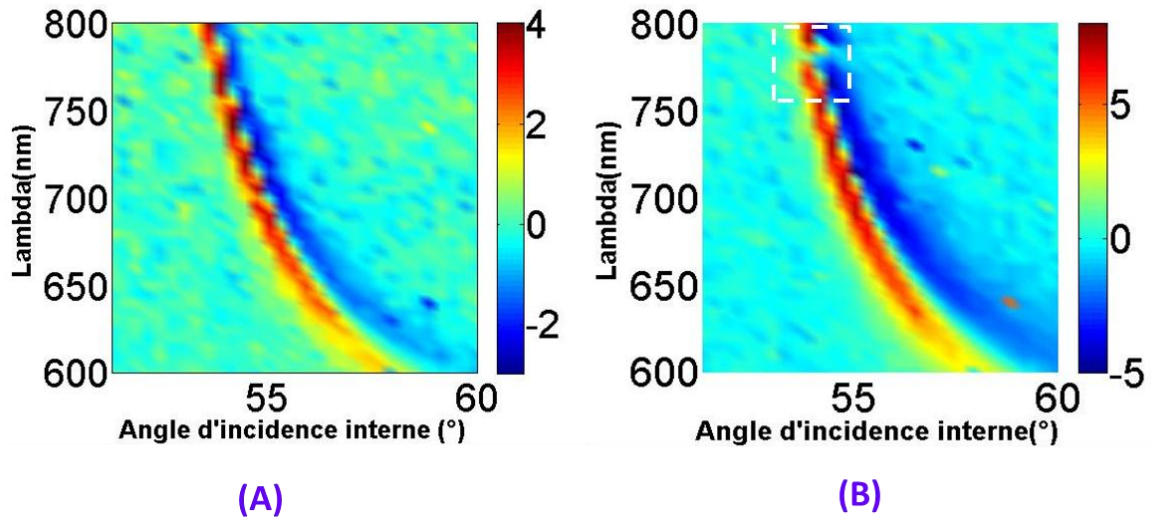


Figure 3.39 : Variation de la réflectivité  $\Delta R$  (%) due à l'adsorption d'une couche de BSA pour : (A) une zone structurée ( $w_1=700\text{nm}$ ,  $w_2=400\text{nm}$ ) et (B) une zone non structurée d'or d'épaisseur  $h_1$ .

En conclusion, nous avons pu donc caractériser expérimentalement la réponse en réflectivité de plusieurs zones structurées et nous avons observé un bon accord entre les résultats numériques et les données expérimentales. En effet, les résultats expérimentaux préliminaires paraissent prometteurs, vu qu'ils permettent de discerner les bandes interdites et d'évaluer l'impact de leur présence sur la réponse de la puce en terme de  $\Delta R(\%)$ . Étant donné, la complexité rencontrée lors de la fabrication des structures à l'échelle nanométrique, seulement les résultats expérimentaux pour des réseaux avec une période supérieure à 500 nm sont importants. Pour obtenir des biopuces structurées à l'échelle nanométrique il faut plusieurs tentatives pour affiner les paramètres de la lithographie électronique ce qui explique le faible nombre d'échantillons obtenus durant le travail de ma thèse, avec à la fois les paramètres souhaités et une bonne surface pour permettre l'accrochage homogène des biomolécules. Nous espérons ultérieurement uniformiser la qualité de surface des réseaux.

## Conclusion

Dans cette étude, nous avons étudié le potentiel de détection d'un réseau 1D structuré à la surface d'une biopuce, à lecture plasmonique, basée sur la configuration de Kretschmann. Grâce à une étude exhaustive basée sur la méthode hybrides FEM / FMM, nous avons cartographié la réponse de la surface structurée à la fixation d'une couche biomoléculaire.

La comparaison entre les performances théoriques des biopuces structurées à celle des biopuces conventionnelles basées sur un plasmon purement propagatif, conduit à l'importance de la nano-structuration sur l'amélioration de la sensibilité non seulement par rapport à la réponse d'une biopuce conventionnelle mais aussi par rapport à l'effet de la micro-structuration de la surface qui n'engendre qu'une perte de performance à cause du phénomène de Bragg. Plus intéressant encore, pour  $\Lambda < 0.5 \lambda_{SP}$ , nous avons constaté que la dominance des modes PSL peut conduire à une amélioration d'un facteur de 300% en terme de sensibilité à un dépôt d'une couche biologique, tout en étant moins sensible aux variations d'indice du milieu diélectrique environnant et conduisant jusqu'à un gain de 750% en terme de SFOM.

L'une des principales conclusions que nous pouvons tirer, est le grand impact de la structuration sur la réponse de la biopuce, notamment la correspondance entre la réflectivité de la puce est sa sensibilité, ceci qui peut être interprété par la physique des différents modes plasmoniques, ainsi que l'efficacité de leurs mécanismes de couplage (PSL-PSL et PSL-PP). En ajustant les paramètres du réseau ( $w_1, w_2$ ), nous pouvons favoriser l'un de ces deux modes par rapport à l'autre. La conséquence de ces couplages permet d'obtenir une amplification du champ électrique dans des régions spécifiques. Nous montrerons dans le chapitre suivant notre stratégie pour profiter de cette amplification dans ces régions dont nous pensons qu'ils sont de plus sensibles à l'adsorption des biomolécules. Ceci peut éventuellement ouvrir des nouvelles possibilités pour la réalisation des améliorations remarquables de sensibilité dans le domaine des biocapteurs plasmoniques.

La caractérisation expérimentale, par le dispositif d'IRPS, de plusieurs zones structurées d'un échantillon nous a non seulement permis l'obtention des nappes de réflectivité mais aussi d'étudier le phénomène de Bragg à travers la visualisation des bandes interdites, ainsi que leurs positions spectrales qui dépendent de la période du réseau. Les difficultés de fabriquer des échantillons nanométriques notamment à cause de « l'effet de proximité » nous ont empêchés de prouver expérimentalement un vrai gain en terme de sensibilité. Les résultats expérimentaux préliminaires paraissent encourageants d'où plusieurs échantillons nano-structurés sont en cours de fabrication pour une vraie démonstration d'une biopuce de haute sensibilité.

## Chapitre 4 : Effet de la localisation des biomolécules

*De nouvelles opportunités pour améliorer la sensibilité d'une biopuce intégrant un réseau nano-micro structuré à sa surface sont offertes, si la localisation des biomolécules peut être réalisée d'une manière sélective dans les zones les plus sensibles de la puce. Nous abordons ce chapitre par un aperçu sur l'état de l'art actuel évoquant cette approche originale. La sensibilité à l'adsorption sélective des biomolécules en « haut », en « bas » et sur les « côtés » d'une structure est ensuite évaluée numériquement. Examiner le potentiel de la localisation des biomolécules, tout d'abord dans le cas d'une biopuce micro-structurée, ensuite dans le cas d'une biopuce nano-structurée, met en évidence l'intérêt de la combinaison entre la nano-structuration et la localisation des biomolécules. L'optimisation du signal engendré par la localisation est effectuée en mettant ainsi l'accent sur l'impact des différentes dimensions géométriques des nanostructures sur la réponse de la biopuce. Finalement, pour appuyer cette approche, la faisabilité de la localisation est discutée en donnant des exemples de solutions technologiques possibles utilisées pour réaliser la fonctionnalisation sélective de surfaces structurées. Ces résultats permettent la validation des différents mécanismes de couplage plasmonique (PSL-PP), déjà discutés dans le chapitre précédent, ayant un effet sur le comportement du champ électrique. Ceci permet non seulement d'établir une correspondance spatiale remarquable entre l'intensité du champ électrique et la réponse de la puce, mais aussi de profiter d'une forte corrélation entre l'exaltation du champ électrique dans certaines zones de la puce et la contribution efficace des biomolécules dans ces mêmes zones. Le champ électrique est ainsi utilisé comme guide pour repérer la zone idéale de la localisation. Ces résultats sont à la fois un travail préliminaire et une base pour la conception de ce type de biopuce. Ce travail fait l'objet d'un deuxième article en cours de rédaction ainsi que d'une présentation dans une conférence internationale.*

## Introduction

Dans le chapitre précédant, nous avons exploré l'impact de la variation des dimensions de la structuration sur la réponse d'une biopuce intégrant un réseau 1D. Nous avons mis l'accent en particulier sur la distribution de l'intensité du champ électrique du plasmon de surface se propageant sur la surface de la structure en créant des « points chauds ». Dans ce chapitre, l'accent n'est pas mis sur l'exaltation de plasmon de surface en raison de la présence des micro-nano-structures, mais plutôt sur la possibilité d'une amélioration de sensibilité grâce à des biomolécules sondes localisées d'une manière sélective sur des zones particulières de la surface, précisément là où l'intensité du champ électrique est la plus forte.

En effet, contrairement à notre approche précédente assumant une distribution uniforme des cibles sur la surface structurée de la biopuce, nous abordons ici la possibilité de localiser des biomolécules dans différentes zones de la surface. Bien que notre analyse se concentre sur la détection sans marquage de molécules, notre approche est conceptuellement compatible avec les travaux récents pour observer la dynamique de certaines molécules (enzymes) à l'aide de concentrations nanomolaires de fluorophore, dans le but d'isoler une molécule individuelle au fond de trous sub-longueur d'un film métallique (Levene et al. 2003).

Potentiellement, la localisation des biomolécules dans des zones spécifiques du réseau peut être cruciale pour renforcer l'intérêt de la structuration. Nous abordons ce chapitre par un aperçu de l'état de l'art sur cette approche. Nous allons ensuite examiner par simulation numérique, le potentiel de la localisation des molécules, tout d'abord dans le cas d'une biopuce micro-structurée, où nous soulignerons la corrélation spatiale entre l'intensité du champ électrique et la réponse du capteur en terme de sensibilité locale. Enfin, dans le cas d'une biopuce nano-structurée, nous optimisons l'effet de la localisation en mettant l'accent sur l'impact des différentes dimensions géométriques des structures, plus particulièrement la largeur des pistes  $w_1$ , la distance  $w_2$  entre elles ainsi que la hauteur  $\Delta h$  du réseau.

### 4.1. État de l'art

Une attention particulière a été récemment accordée à l'exploration de l'effet de la localisation sélective des biomolécules sur la réponse d'une biopuce. En se basant sur une approche numérique, Hoa et al (Hoa et al. 2009) ainsi que Kim et al (Kim et al. 2011) ont établi la corrélation entre la distribution spatiale du champ électrique et la sensibilité angulaire locale engendrée par le déplacement d'un complexe biomoléculaire fictif le long de la surface du réseau. De leur côté, Piliarik et al (Piliarik et al. 2011) ont caractérisé expérimentalement la réponse d'un réseau de chaînes de nanotiges métalliques sur un substrat diélectrique. Leurs résultats ont montré une parfaite correspondance entre la mesure du décalage de la résonance du PSL (due à la variation locale de l'indice de réfraction du milieu aqueux) et le profil du champ électrique moyen dans le plan perpendiculaire à l'axe des nanoparticules. De plus, les travaux de Byun et al (Byun, Jang et al. 2009), centrés autour de l'estimation numérique d'un gain engendré par la localisation sur un réseau lamellaire 1D structuré, ont montré que les cibles qui s'accrochent sur les côtés des structures d'une périodicité  $\Lambda = 100$  nm contribuent de manière significative à l'amélioration de la performance de la biopuce en terme de sensibilité. Bien que cette étude soit théorique, le résultat est assez frappant dans le sens où il



a suggéré la possibilité d'une amélioration de la sensibilité d'un facteur de  $\approx 21$  fois comparée à la sensibilité d'une puce sur laquelle la couche biologique est uniformément distribuée. Ultérieurement, l'importance de la localisation des cibles sur les côtés des structures a été validée expérimentalement (Kyungjae et al. 2010) sur le même type de réseau mais avec une période de  $\Lambda = 400$  nm ce qui permet d'attendre un facteur d'amélioration de l'ordre de 3.4. Récemment, d'autres travaux (Junesch et al. 2012) ont révélé le potentiel de cette technique en localisant les biomolécules dans les coins supérieurs de certaines structures avec différentes géométries comme les trous (Feuz et al. 2010) et les cylindres (Feuz et al. 2012), fournissant un gain en terme de sensibilité. Ces travaux ont été notre source d'inspiration pour prouver numériquement l'importance de la localisation sélective de biomolécules dans le but d'améliorer les performances d'une biopuce 2D structurée et établir la correspondance entre l'exaltation du champ électrique et la réponse de la biopuce.

#### 4.2. Effet de la localisation des biomolécules dans une biopuce micro-structurée

Dans le cadre d'une biopuce structurée, composée d'un substrat SF10 sur lequel nous considérons un film continu uniforme d'or d'une épaisseur  $h_1 = 64.2$  nm qui intègre des structures rectangulaires périodiquement arrangées, avec une profondeur  $\Delta h = 15$  nm, de telle manière que l'épaisseur du film d'or inférieure soit  $h_2 = 49.2$  nm. En pratique, étant donné que la fabrication d'une structure de taille micrométrique est relativement simple, nous avons choisi d'étudier dans un premier temps une structure de période possédant les dimensions suivantes ( $K_1 = K_2 = 1, \Rightarrow w_1 = w_2 = 618.7$  nm). Cette structure correspond à un maximum relatif de sensibilité (Chapitre 3/Figure 3. 11). Tout d'abord, le champ électrique (Figure 4. 1) est modulé et hétérogène à la surface de la structure avec l'existence de zones de champ électrique très intense (aux coins de la structure). Ces zones devraient posséder une haute sensibilité à la détection des biomolécules tandis que le reste de la surface devrait avoir une réponse proche de celle d'une biopuce conventionnelle.

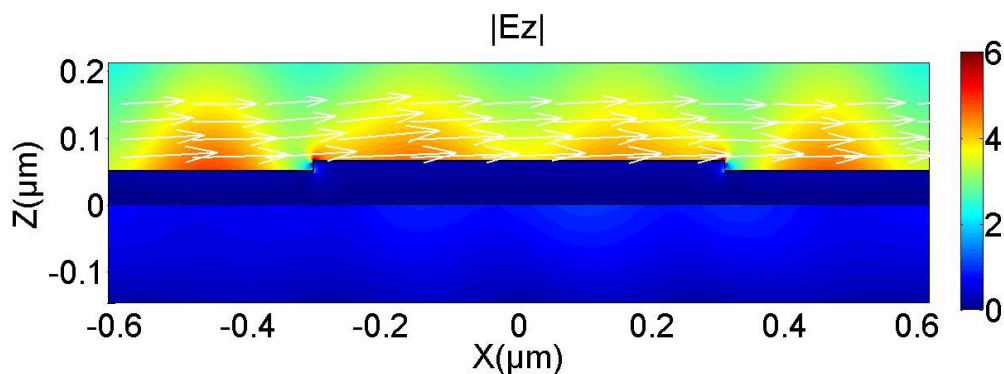


Figure 4. 1: Carte du champ électrique  $|E_z|$  correspondant à la configuration possédant les paramètres suivants : ( $K_1 = K_2 = 1, w_1 = w_2 = 618.7$  nm). Les flèches désignent le vecteur de Poynting.

Dans un premier temps, la localisation du matériel biologique est faite dans trois différentes zones de la structure (Figure 4. 2) : sur la face supérieure « haut de la structure », sur les « côtés » et sur la face inférieure « bas de la structure ».



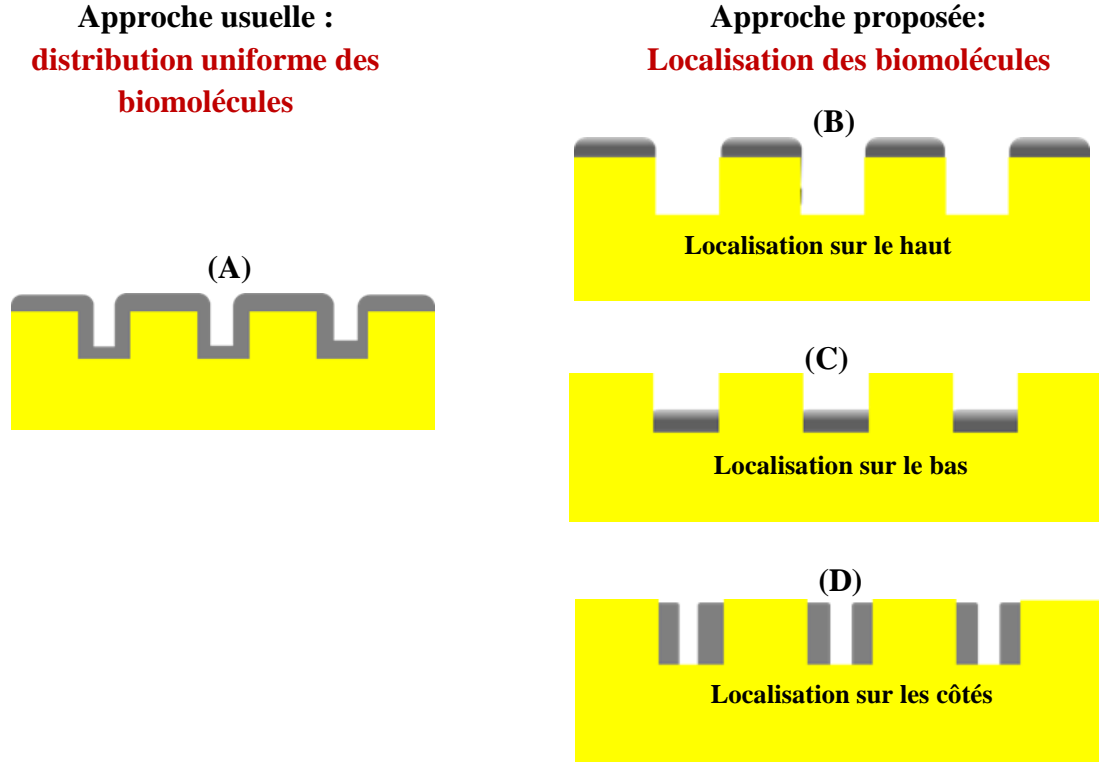


Figure 4. 2: (A) Distribution uniforme des biomolécules sur la totalité de la surface structurée. Différentes configurations de la localisation du matériel biologique dans différentes zones de la structure: (B) sur le haut (C) sur le bas et (D) sur les côtés.

La quantité des biomolécule accrochées diffère d'une zone à une autre. Elle dépend de la surface d'accrochage et donc des divers paramètres géométriques, telles que la hauteur et la période du réseau. Par conséquent une estimation réelle de l'effet de la localisation de biomolécules nécessite le calcul de la sensibilité  $\Delta R_{UBL} (\% / \text{nm} / \text{nm})$  par unité de biomolécules localisées (UBL) qui est plus appropriée pour une comparaison juste. Cette sensibilité est donnée en normalisant la sensibilité en terme de  $\Delta R (\% / \text{nm})$  par la longueur  $L_{\text{effective}}$  couverte d'une couche biologique.

$$\Delta R_{UBL} (\% / \text{nm} / \text{nm}) = \frac{\Delta R (\% / \text{nm})}{L_{\text{effective}} (\text{nm})} \quad (\text{IV.1})$$

Étant donné que  $L_{\text{effective}}$  varie suivant la zone de localisation des biomolécules sur la surface de la structure, ceci revient à exprimer  $\Delta R_{UBL} (\% / \text{nm} / \text{nm})$  de la manière suivante selon les cas suivants:

- Distribution uniforme :

$$\Delta R_{UBL} (\% / \text{nm} / \text{nm}) = \frac{\Delta R (\% / \text{nm})}{w_1 + w_2 + 2\Delta h (\text{nm})} \quad (\text{IV.2})$$

- Localisation sur haut de la structure :

$$\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm) = \frac{\Delta R(\%/nm)}{w_1(nm)} \quad (IV.3)$$

- Localisation sur le bas de la structure :

$$\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm) = \frac{\Delta R(\%/nm)}{w_2(nm)} \quad (IV.4)$$

- Localisation sur les côtés de la structure :

$$\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm) = \frac{\Delta R(\%/nm)}{2\Delta h(nm)} \quad (IV.5)$$

Pour évaluer le gain réalisé grâce à la localisation par rapport à la réponse d'une biopuce conventionnelle (surface plane et l'adsorption d'une couche biologique sur toute la surface), nous définissons le facteur d'amélioration de la sensibilité « Sensitivity Enhancement Factor » (SEF) par :

$$SEF = \frac{\Delta R_{UBL}(\text{localisation de la surface structurée})}{\Delta R_{UBL}(\text{surface plane associée})} \quad (IV.6)$$

Les valeurs calculées de  $\Delta R(\%/nm)$ ,  $\Delta R_{UBL}(\%/nm/nm)$  et SEF pour chaque zone sont données dans le tableau 4. 1. La contribution en terme de  $\Delta R_{UBL}$  pour une configuration associée à des biomolécules fixées sur les côtés des structures est significativement plus grande que celle associée à des biomolécules localisées sur le haut ou le bas de la structure.

	Haut	Bas	Côtés	Distribution uniforme	Surface plane
$\Delta R (\%/nm)$	4.65	4.19	0.39	9.22	10.87
$L_{effective} (nm)$	$w_1=618.7$	$w_2=618.7$	$2\Delta h=30$	$w_1+ w_2+ 2\Delta h=1267.4$	$w_1+ w_2=1237.4$
$\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm)$ ( $10^{-3}$ )	7.5	6.7	13	7.2	8.7
SEF	0.86	0.77	1.49	0.82	1

**Tableau 4. 1 : Les valeurs  $\Delta R (\%/nm)$ ,  $\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm)$  et SEF sont calculées pour différentes configurations de biomolécules localisées (haut, bas, côtés, distribution uniforme) pour une structure avec  $K_1 = K_2 = 1$  ( $w_1= 618.7$  nm,  $w_2= 618.7$  nm, la hauteur du réseau est  $\Delta h = 15nm$ ). À titre de comparaison, les valeurs  $\Delta R (\%/nm)$ ,  $\Delta R_{UBL} (\%/nm/nm)$  et SEF dans le cas d'une biopuce conventionnelle basée sur une surface plane sont affichées dans la dernière colonne.**

La contribution des biomolécules au signal global de la biopuce ne se fait pas de façon équivalente. Visiblement, seul un nombre limité de biomolécules y participe efficacement. La localisation sélective de la biomolécule sur les côtés de la structure permet d'améliorer la

performance en terme de SEF d'un facteur de près de 50% par rapport au biocapteur conventionnel. La réduction de la surface sur laquelle les biomolécules se fixent, en se limitant aux zones les plus sensibles offre donc la possibilité d'améliorer la sensibilité relative par rapport à une distribution uniforme. La raison est l'existence d'un champ électrique amplifié à cause des plasmons localisés sur les coins de la structure. Pour confirmer ceci nous proposons de réduire encore la zone de la localisation et d'étudier numériquement l'évolution de la sensibilité locale au voisinage d'une structure suite à l'adsorption du biomolécules sous forme d'un carré de surface 1 nm x 1 nm, qui balaye la surface entière de la structure (le haut+ le bas+ les côtés) (Figure 4. 3).

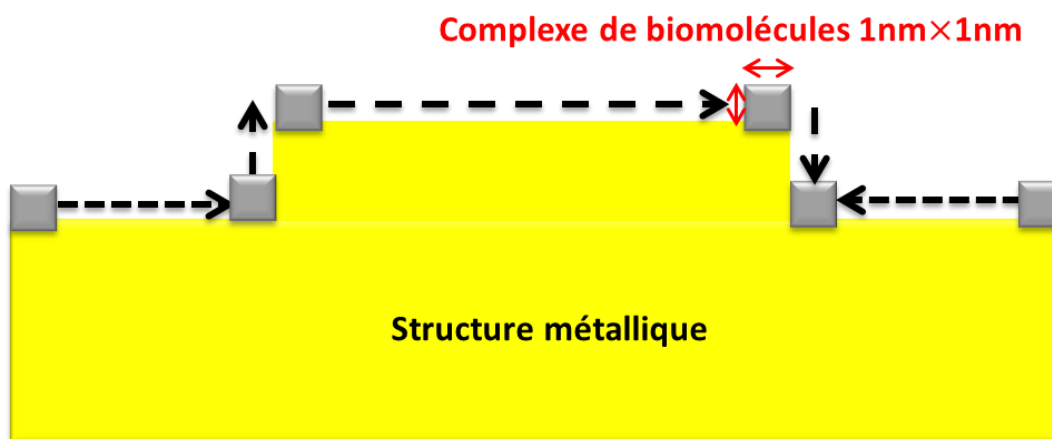


Figure 4. 3: Principe du calcul de la sensibilité locale obtenue en déplaçant un carrée 1nm x1nm de biomolécules le long de la de la structure.

L'exercice se complique encore lorsqu'il s'agit de modéliser numériquement un complexe de biomolécules de petite taille. Afin de s'affranchir au mieux des erreurs de calcul, en particulier sur les coins de la structure, nous avons affiné davantage la discrétisation de notre maillage à l'intérieur du complexe biologique ( $\approx 16$  mailles) rendant ainsi possible la prédiction et l'estimation de la réponse de la biopuce en terme de sensibilité locale  $\Delta R_{UBI}$  (% / nm/nm) (Figure 4. 4).

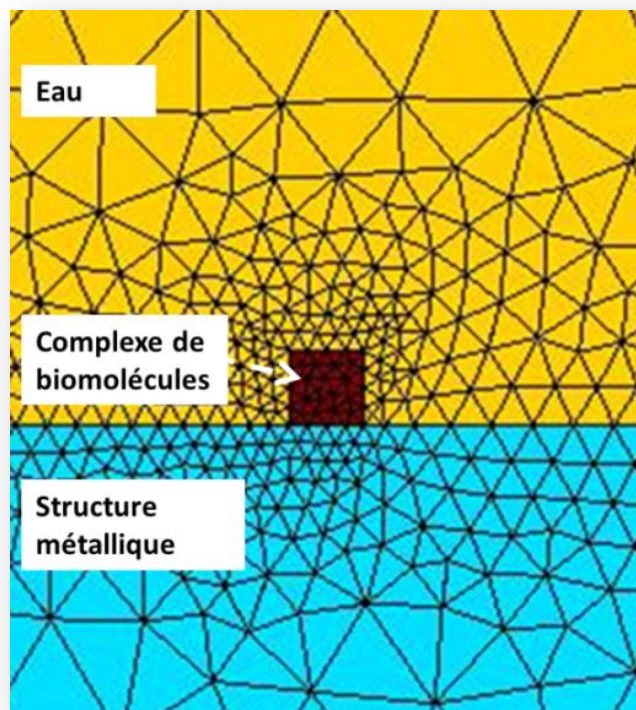


Figure 4. 4 : Zoom sur un maillage d'un complexe de biomolécules balayant la surface de la structure métallique.

Afin de comparer la sensibilité locale de la biopuce avec la distribution du champ électrique, nous avons tracé (Figure 4. 5) en rouge la sensibilité locale en fonction de la position de du complexe biologique et en noir une coupe de l'intensité du champ électrique, à 0.5 nm de la surface, en fonction des coordonnées curvilignes.

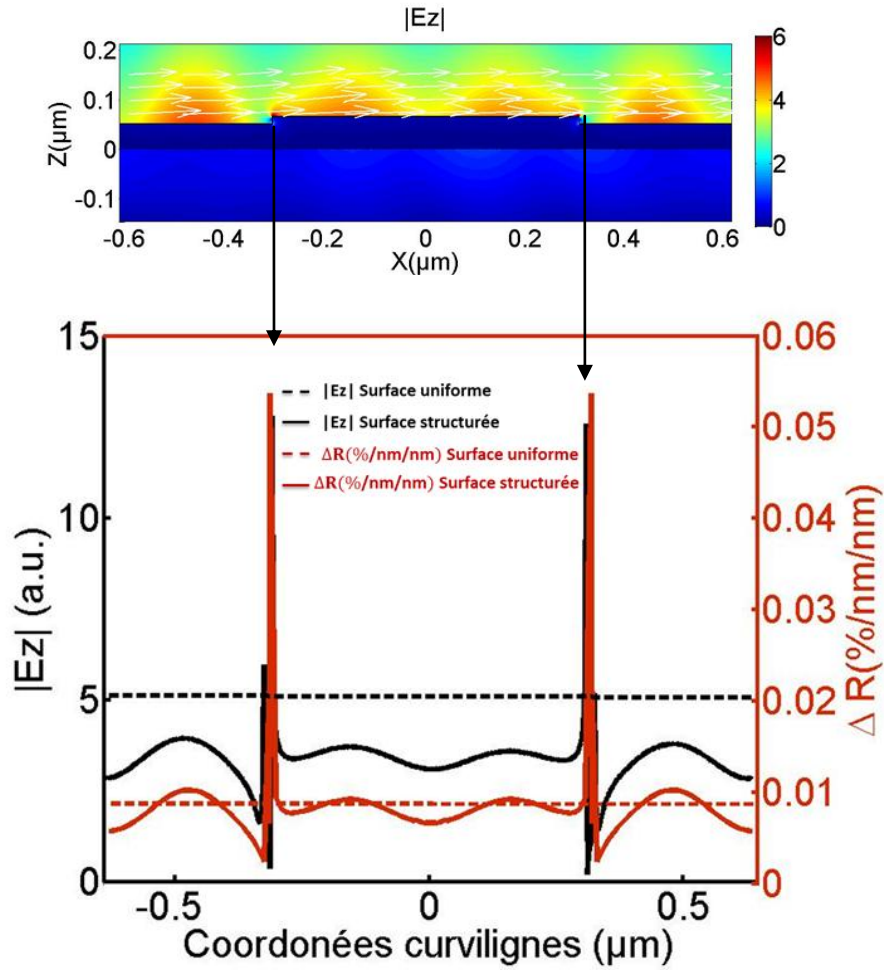


Figure 4. 5: Superposition de la sensibilité locale et du profil du champ électrique pour la surface micro-structurée ( $K1 = 1$ ,  $K2 = 1$ ).

Nous constatons que la sensibilité est fortement corrélée au profil du champ électrique confirmant ainsi l'hypothèse générale que le confinement du champ électrique au voisinage de la structure engendre une amplification de la sensibilité locale. Cette conclusion est en parfait accord avec celle présentée dans une étude récente (Piliarik, Kvasnika et al. 2011). Nous remarquons que la sensibilité locale au niveau des coins de la surface supérieure est 2.68 fois plus grande par rapport au maximum de la réponse du reste de la surface de la structure (trait continu rouge).

Nous avons exploré l'impact de la localisation dans le cas d'une surface micro-structurée et nous avons montré que l'obtention d'un gain important pour une biopuce avec une période micrométrique nécessite la localisation d'une petite fraction de biomolécules sur les coins des structures. Cependant, la réalisation expérimentale de ce type de fonctionnalisation chimique est très difficile. L'étape suivante va consister à étudier l'effet de la localisation sur la réponse des structures de période à l'échelle nanométrique.

### 4.3. Effet de la localisation des biomolécules dans une biopuce nano-structurée

#### 4.3.1. Impact de la largeur des pistes et des fentes

Similairement au cas d'une micro-structure, nous proposons dans cette section d'étudier l'effet de la localisation d'un matériel biologique dans différentes zones d'une biopuce nano-structurée, en évaluant tout d'abord sa sensibilité (%/nm) et ensuite le gain en terme de SEF.

##### 4.3.1.1. Calcul de la sensibilité

Nous cartographions trois nappes de sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  associées respectivement à l'intégration d'une couche biologique sur le haut de la structure (Figure 4. 6-A) ensuite sur le bas (Figure 4. 6-B) et finalement sur les côtés (Figure 4. 6-C). Pour chaque nappe, les calculs sont effectués en variant les paramètres du réseau  $w_1$  et  $w_2$  de 6nm à 310nm avec un pas de 3nm. Comme nous l'avons défini dans le chapitre 3, nous pouvons exprimer  $w_1$  et  $w_2$  en fonction  $K_1$  et  $K_2$ . Ceci revient à dire que le couple  $K_1$  et  $K_2$  varie de 0.01 à 0.5 avec un pas de 0.005. Notre limitation à l'intervalle [0.01 ; 0.5] est justifiée par les résultats montrés tout au long du chapitre précédent, dans le cas d'une distribution uniforme d'une couche biologique sur toute la surface du réseau, qui mettent en évidence que le sous-domaine correspondant à  $K_1 + K_2 < 0.5$  est remarquablement caractérisé par une amélioration importante de sensibilité comparée à celle d'une biopuce conventionnelle.

Tout d'abord un aperçu global de ces 3 nappes montre que l'optimum de sensibilité diffère d'une nappe à une autre. En effet, la première nappe (Figure 4. 6-A localisation en « haut »), met en évidence une augmentation de la sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  pour des grandes valeurs de  $K_1$  et pour  $K_2 < 0.3$  ( $w_2 < 185.6$  nm) et atteint un maximum  $\approx 9\%/nm$ . Nous attribuons cette amélioration de sensibilité simplement à l'augmentation de la quantité des biomolécules placées sur le haut de la structure au fur et à mesure que celle-ci devient plus large. Pour la même raison, la deuxième nappe (Figure 4. 6-B localisation en « bas »), présente une amélioration de sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  qui atteint 8.5 %/nm pour des faibles valeurs de  $K_1 < 0.1$  ( $w_1 < 61.8$  nm) et les grandes valeurs de  $K_2 > 0.2$  ( $w_2 < 123.7$  nm). Ceci est aussi engendré par l'augmentation de la quantité des biomolécules quand la largeur de la surface de localisation augmente. Enfin, la troisième nappe (Figure 4. 6-C localisation sur les « côtés ») montre une amélioration de sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  qui atteint  $\approx 21\%/nm$  pour les structures de très faibles dimensions ( $K_1 < 0.1$  et  $K_2 < 0.1$ ). Il faut bien préciser que ces nappes représentent bien le signal que nous pouvons mesurer et non pas le gain dû à la localisation des biomolécules. Notons aussi que similairement à la nappe associée à la distribution uniforme des biomolécules, déjà calculée dans le chapitre 3, ces trois nappes sont affectées par un gap de réflectivité engendré par le phénomène de la diffusion de Bragg, expliquant la chute de sensibilité qui devient presque nulle pour  $K_1 + K_2 = 0.5$ .

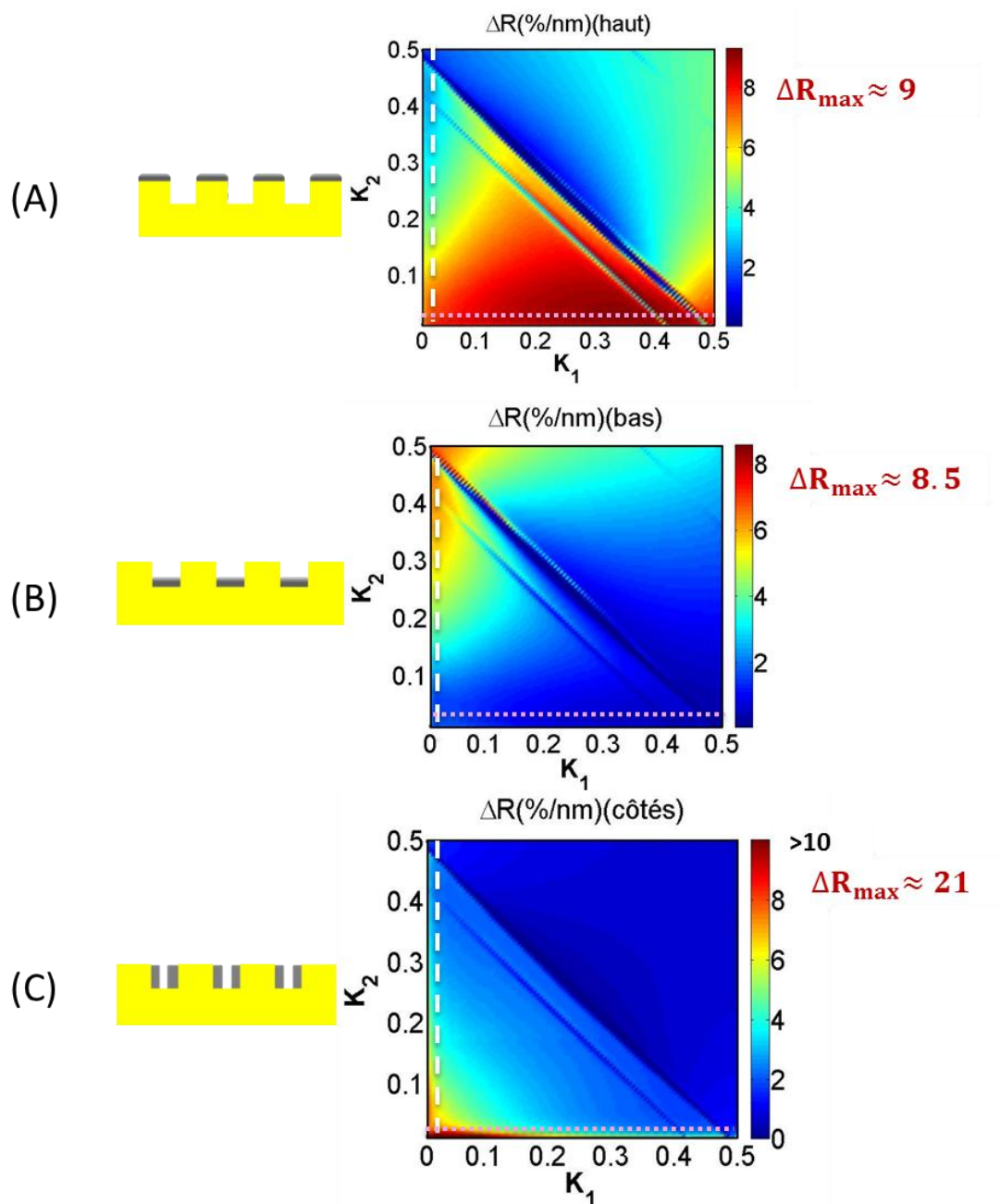


Figure 4. 6 : Cartographie de la sensibilité  $\Delta R$  (% / nm) due à la localisation des biomolécules : (A) sur la surface supérieure des nanostructures, (B) sur la surface inférieure séparant les structures, (C) sur les côtés de chaque structure. Pas d'interpolation de données utilisée dans ces calculs. La barre de couleur est saturée pour mieux mettre en évidence les grandes valeurs de  $\Delta R$  (% / nm) au-delà de 8.

Afin d'évaluer la contribution de chaque zone de la surface dans le signal total de sensibilité  $\Delta R$  (%/nm), pour le cas d'une distribution uniforme des biomolécules sur la surface de la puce, nous avons dans un premier temps extrait à partir des nappes (A), (B) et (C) des coupes des sensibilité que nous avons rassemblées (Figure 4. 7). Ces courbes sont tracées en fonction de  $\kappa_2$ , en choisissant de fixer  $\kappa_1=0.02$  ( $w_1 \approx 12$  nm) (traits en pointillés blanc). Il est important de signaler que les courbes (A), (B) et (C) ont été calculées avec un maillage plus fin comparé au cas de la distribution uniforme dans le but d'avoir des courbes lisses ; ceci explique vraisemblablement que la courbe représentant la somme des trois coupes (haut+bas+côtés) est légèrement inférieure à la courbe de la distribution uniforme. Nous



déduisons que la contribution des biomolécules en terme de sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  en haut et à coté est nettement supérieure à celle en bas de la structure pour  $K_2 < 0.22$  ( $w_2 < 136$  nm), malgré la faible quantité de matière déposée sur cette zone. Cependant, en migrant vers une configuration piste ( $K_2 \gg K_1$ ) la sensibilité en bas de la structure devient plus importante pour  $K_2 > 0.22$  étant donné que la quantité du biomolécules est proportionnelle à l'augmentation de la distance entre les structures.

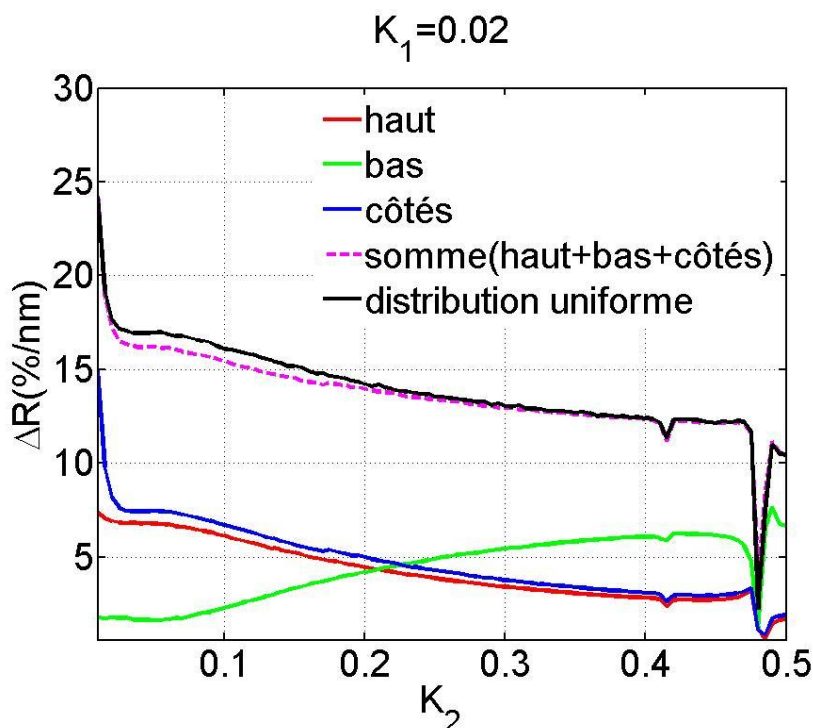


Figure 4. 7: Courbes extraites des nappes de sensibilité (A), (B) et (C) en effectuant des coupes verticales ce qui revient à fixer la valeur de  $K_1=0.02$  et faire varier la valeur de  $K_2$ .

Sur une seule configuration choisie à titre d'exemple ( $K_1 = 0.02$ ,  $K_2 = 0.47$ ), le plus frappant dans ce contexte est le fait que le signal engendré par la localisation des biomolécules sur le haut de la structure présente 26.5% de la sensibilité totale (équivalent à une configuration uniforme des biomolécules), bien que les biomolécules localisées ne couvrent qu'une surface équivalente à 3.7% de la surface entière de la structure.

Nous avons en un deuxième temps extrait à partir des nappes (A), (B) et (C) des courbes de sensibilité suivant des coupes horizontales (Figure 4. 8). Ces courbes sont ensuite tracées en fonction de  $K_1$ , après avoir fixé  $K_2=0.02$  (trait en pointillé rose). Nous remarquons également que la contribution des biomolécules en terme de sensibilité  $\Delta R(\%/nm)$  en haut et sur les côtés est supérieure à celle en bas de la structure.

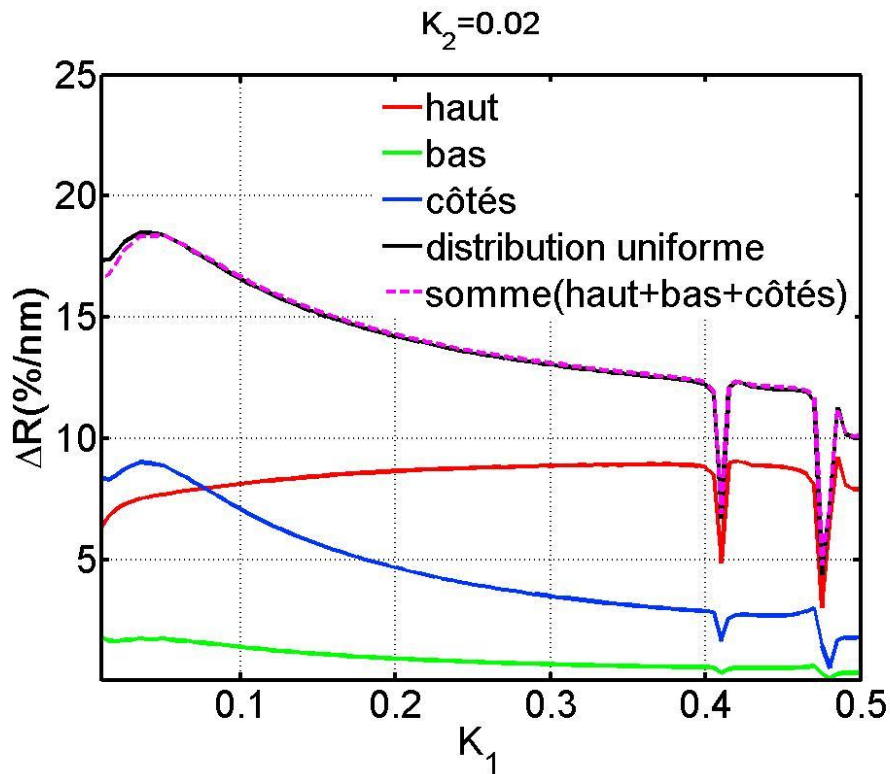


Figure 4. 8: Courbes extraites des nappes de sensibilité (A), (B) et (C) en effectuant des sections horizontales ce qui revient à fixer la valeur de  $K_2=0.02$  et à faire varier la valeur de  $K_1$ .

Nous confirmons ainsi que les biomolécules ne contribuent pas d'une façon équivalente au signal global de la biopuce. Nous avons ainsi démontré que seul un petit nombre de biomolécules localisées au niveau des zones sensibles particulièrement en haut et sur les côtés des structures apporte une contribution significative à la sensibilité des biopuces structurées.

#### 4.3.1.2. Calcul de la SEF

Afin d'estimer l'effet trivial de l'augmentation de la surface active sur la sensibilité, nous avons réutilisé le SEF, capable de cerner le vrai gain engendré par la localisation d'une surface structurée vis-à-vis de la réponse d'une biopuce conventionnelle. À partir des différentes nappes de sensibilité (Figure 4. 6) nous avons remonté aux trois nappes de SEF : tout d'abord suite à l'intégration d'une couche biologique sur le haut (Figure 4. 9-A) ensuite sur le bas (Figure 4. 9-C) et finalement sur les côtés des structures (Figure 4. 9-E). L'extraction des coupes à  $K_1$  fixé ou bien à  $K_2$  fixé, selon le cas (Figure 4. 9-B-D-F), permet de mieux souligner la dépendance du gain aux couples  $(K_1, K_2)$ .

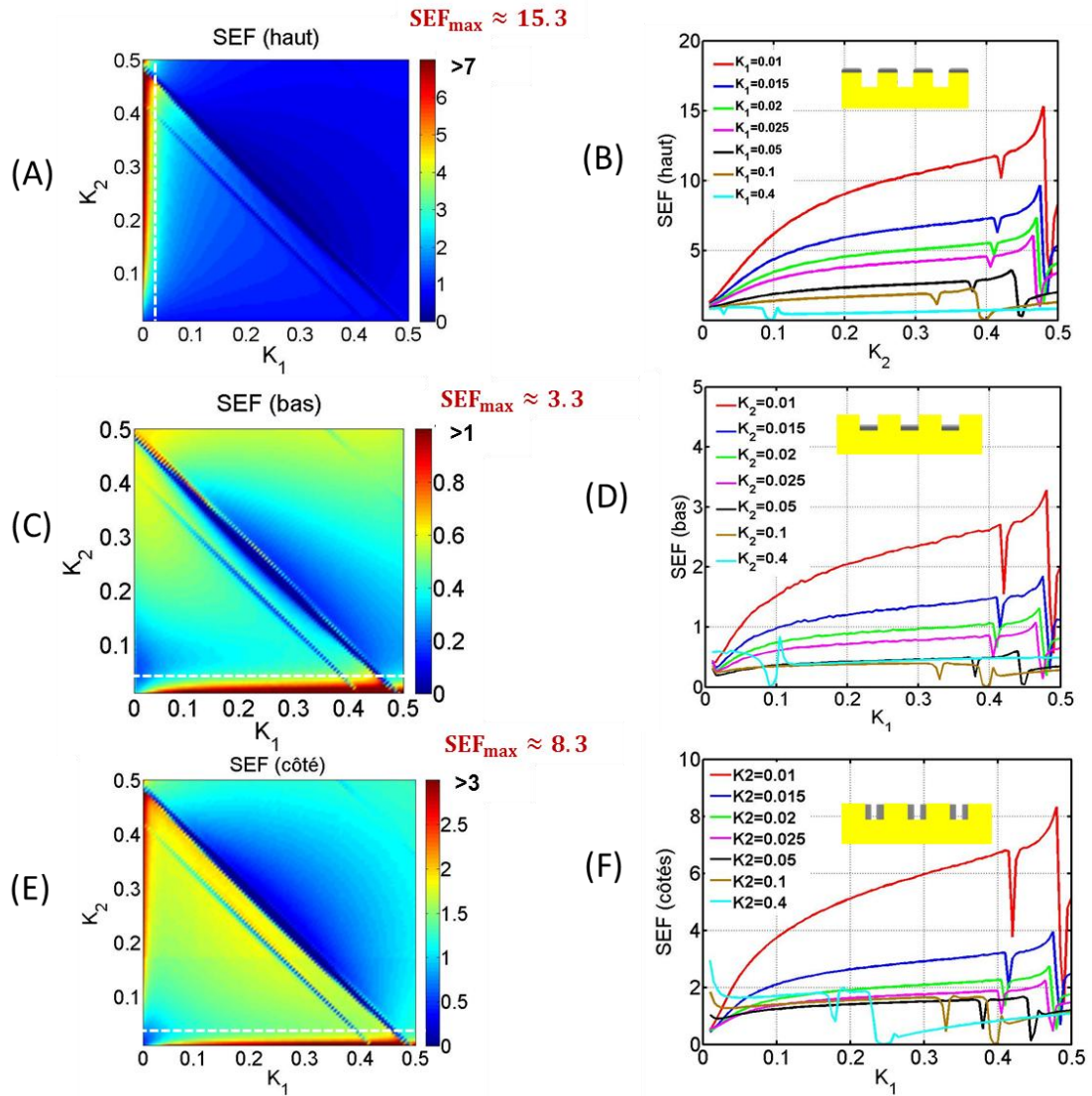


Figure 4. 9: Cartographie de SEF évaluant le gain dû à la localisation des biomolécules : (A) sur le haut des nanostructures, (C) en bas des structures, (E) sur les côtés de chaque structure. Coupes horizontales : (B) extraites de la nappe A, (D) extraites de la nappe C, (F) extraites de la nappe E.

Dans les résultats présentés (Figure 4. 9) la caractéristique frappante dans la première nappe est la présence de deux domaines différents. Le premier est un grand domaine avec un SEF proche de zéro et un petit domaine avec un SEF  $> 7$  pour de faibles valeurs de  $K_1$  (i.e.  $K_1 < 0.1$ ) et de grandes valeurs de  $K_2$ . En effectuant des coupes en fonction de  $K_2$  pour différents valeurs de  $K_1$  variant de 0.01 à 0.4, on observe que le SEF augmente jusqu'à atteindre une valeur maximale de 15.3. Celui-ci est obtenu pour une configuration associée au bord du band gap ( $K_1=0.01$ ,  $K_2=0.47$ , respectivement,  $w_1= 6.19$  nm et  $w_2= 290$  nm). De plus, pour des valeurs de  $K_1 > 0.1$ , nous n'avons pratiquement pas de gain. Ce comportement est attribué à des configurations « pistes », or les résultats montrés dans le chapitre précédent prouvent qu'une augmentation de la distance entre les pistes provoque un fort couplage entre le LSP et PP ce qui engendre une augmentation de SEF (jusqu'à  $K=0.5$ )

La nappe de SEF associée à la localisation des molécules en bas de la structure met en évidence un petit domaine avec un  $SEF > 1$  pour de faibles valeurs de  $K_2$  (i.e.  $K_2 < 0.05$ ) et des grandes valeurs de  $K_1$ . Les coupes tracées en fonction de  $K_1$  pour différentes valeurs de  $K_2$  variant de 0.01 à 0.4 illustrent à la fois un gain maximal du  $SEF \approx 3.3$ , obtenu pour une configuration associée au bord du band gap ( $K_1=0.47$ ,  $K_2=0.01 \Rightarrow w_1=290\text{nm}$  et  $w_2=6.19\text{nm}$ ) et aussi une énorme diminution de la SEF à partir de  $K_1=0.025$ . Précédemment, nous avons expliqué que les configurations fentes sont dotées d'un couplage entre le LSP-PP. Ce couplage est d'autant plus efficace si l'onde se propage sur une distance plus grande en bas de la structure.

Comme nous pouvons l'observer sur la nappe associée à la localisation des molécules sur les côtés des structures, le SEF dépasse 3 dans deux cas : celui d'une configuration piste et celui d'une configuration fente. Néanmoins la réponse de cette dernière est plus importante. L'examen des courbes de SEF tracées en fonction de  $K_1$  pour différentes valeurs de  $K_2$  montre une valeur maximale du SEF au voisinage de 8.3 qui correspond à une configuration fente optimale ( $K_1=0.47$ ,  $K_2=0.01$ ). On remarque aussi l'existence d'une zone au centre de la nappe, pour  $0.2 < K_1 + K_2 < 0.4$  (i.e.  $123.7\text{ nm} < w_1 + w_2 < 247.4\text{nm}$ ) caractérisée par un  $SEF \approx 2$ . Des biopuces structurées avec de telles dimensions présentent l'avantage d'être réalisables expérimentalement plus facilement que pour des valeurs de  $K_1$ ,  $K_2$  très faibles.

D'une manière générale, la réponse des trois nappes présente une similitude : un faible gain pour les petites structures  $K_1 + K_2 < 0.05$  dû au fait qu'elles ne peuvent maintenir des plasmons localisés. Sur la base de cette comparaison entre les nappes, nous concluons que la localisation des biomolécules en haut des configurations pistes est nettement plus efficace comparée à celle en bas ou bien sur les côtés dans le cas des structures de type fentes.

En conclusion, la figure 4. 10 (respectivement 4. 12) regroupe les courbes de SEF pour les différentes localisations de biomolécules pour une structure de type piste (respectivement de type fente).

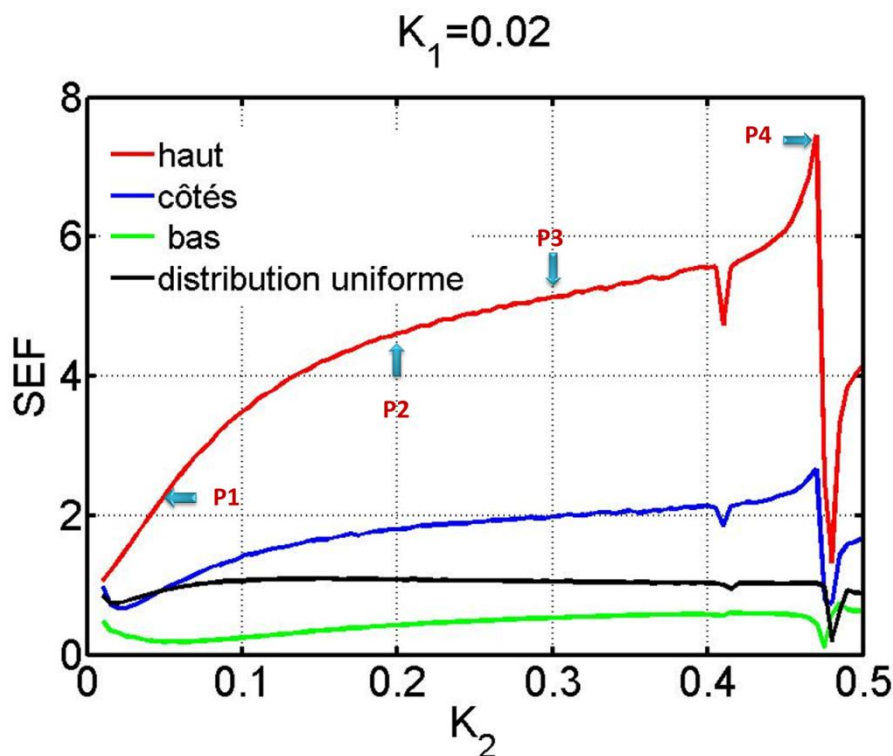


Figure 4. 10: Courbes extraites des différentes nappes SEF, en variant  $K_2$  pour  $K_1=0.02$ . La courbe rouge correspond à la localisation des biomolécules sur le haut de la structure. La courbe bleue est associée à la localisation des biomolécules sur les côtés de la structure. La courbe verte est associée à la localisation des biomolécules sur le bas de la structure. La courbe noire est attribuée à une distribution uniforme des biomolécules sur toute la surface.

Afin d'établir la correspondance entre le profil du champ électrique et le gain en terme de SEF, nous avons visualisé le champ électrique proche de la structure en traçant une coupe horizontale suivant les coordonnées curviligne à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique, pour quatre configurations différentes P1 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.05$ ), P2 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.2$ ), P3 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ) et P4 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.47$ ). Pour ces différentes configurations, nous remarquons une exaltation locale du champ électrique, c'est-à-dire des «points chauds» sur le haut de la structure, expliquant ainsi l'important gain dû à l'incorporation des biomolécules dans cette zone du réseau. Le passage d'une configuration P1 vers une configuration P4 est accompagné par une exaltation de l'intensité du champ électrique étalé en haut de la piste expliquant ainsi l'augmentation du SEF. Cette exaltation est attribuée à l'efficacité du couplage PSL- PP. Notons que pour la configuration P4, qui se trouve au bord du band gap, le champ électrique loin de la piste diminue énormément, il est donc presque confiné que sur le haut de la structure.

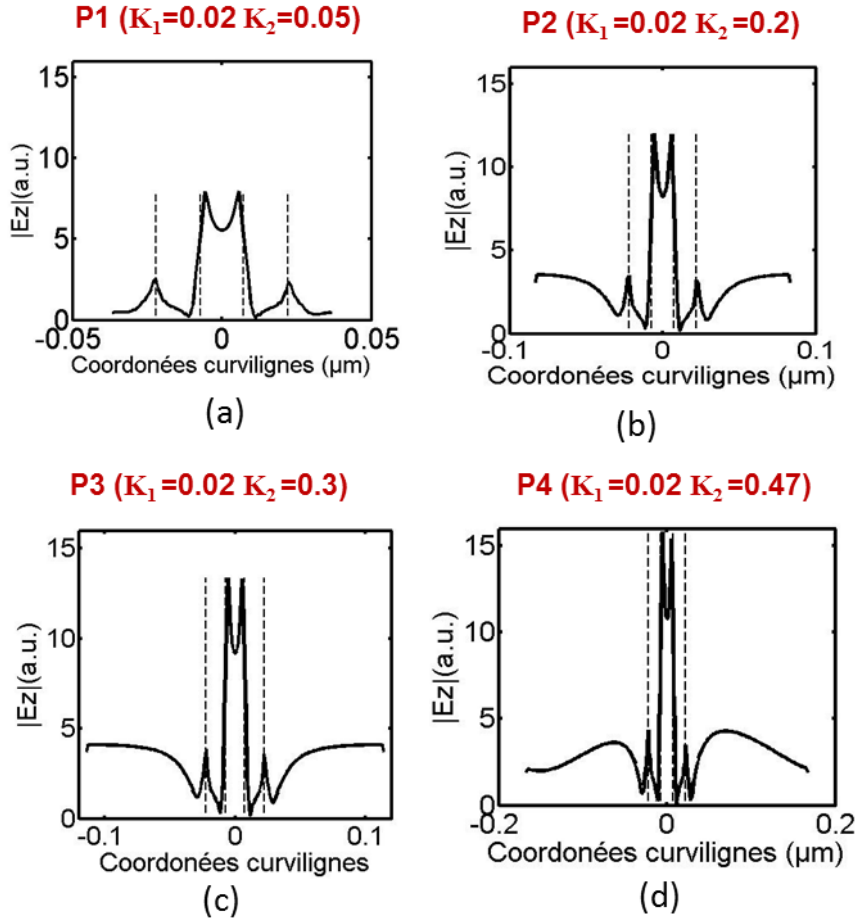


Figure 4. 11: Coupes horizontales suivant les coordonnées curvilignes, à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique, pour quatre configurations différentes : (a) P1 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.05$ ), (b) P2 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.2$ ), (c) P3 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ) et (d) P4 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.47$ ).



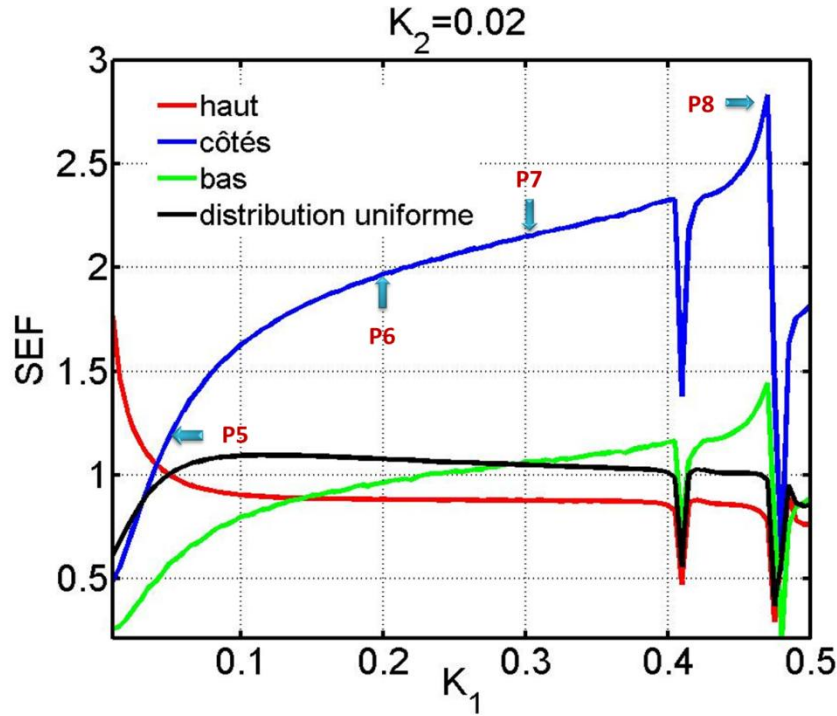


Figure 4. 12 : Courbes extraites des différentes nappes SEF, en variant  $K_1$  pour  $K_2=0.02$ . La courbe rouge correspond à la localisation des biomolécules sur le haut de la structure. La courbe bleu est associée à la localisation des biomolécules sur les côtés de la structure. La courbe verte est associée à la localisation des biomolécules sur le bas de la structure.

De même, nous avons tracé une coupe horizontale du champ électrique suivant les coordonnées curvilignes pour quatre configurations différentes P5 ( $K_1=0.05$ ,  $K_2=0.02$ ), P6 ( $K_1=0.2$ ,  $K_2=0.02$ ), P7 ( $K_1=0.3$ ,  $K_2=0.02$ ) et P8 ( $K_1=0.47$ ,  $K_2=0.02$ ). Ceci permet de visualiser une exaltation locale du champ électrique, mais cette fois-ci sur les coins (supérieurs et inférieurs) de la fente, due au couplage PSL-PP et expliquant ainsi le gain important dû à l'incorporation des biomolécules sur les côtés de la structure. L'efficacité du couplage PSL-PP atteint son maximum pour la configuration P8 qui se trouve au bord du band gap où l'intensité du champ électrique sur les coins inférieurs de la structure dépasse celle des coins supérieurs.



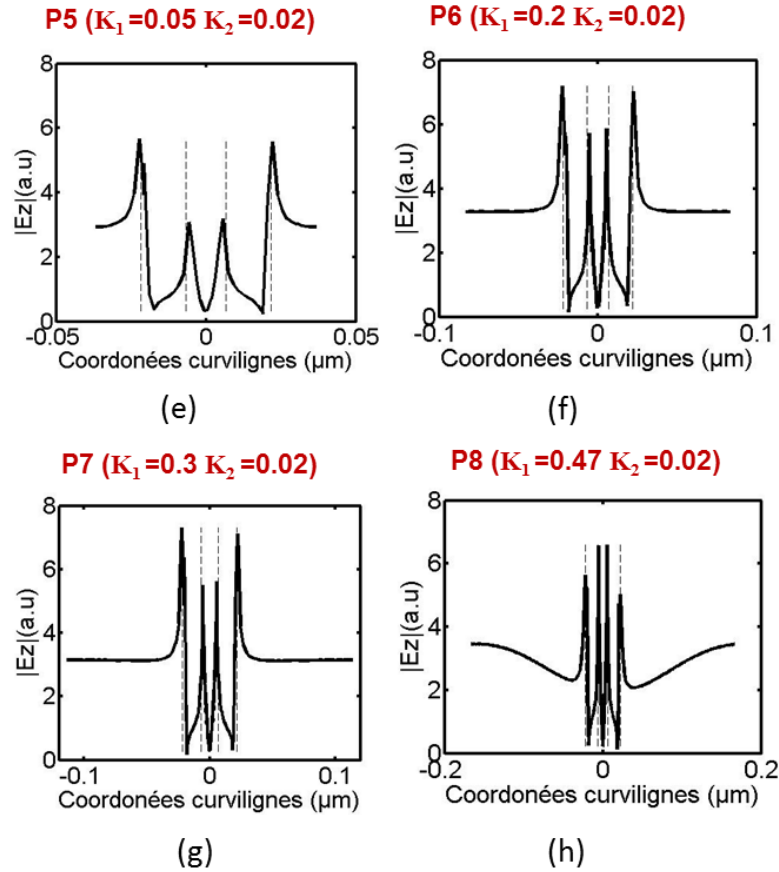


Figure 4. 13: Coupes horizontales suivant les coordonnées curvilignes, à une distance de 1 nm par rapport à la surface métallique, pour quatre configurations différentes : (e) P5 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.05$ ), (f) P6 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.2$ ), (g) P7 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ) et (h) P8 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.47$ ).

D'une manière générale, nous pouvons confirmer l'existence d'une correspondance entre l'exaltation de l'intensité du champ électrique et la contribution efficace des biomolécules dans le signal total. Cette corrélation signifie que le champ électrique peut être un indicateur dévoilant les zones sensibles de la surface. La localisation sélective des biomolécules sur ces zones spécifiques d'une surface nano-structurée permet d'obtenir un gain plus important que celui obtenu pour une surface micro-structurée. Cette amélioration peut être encore optimisée en variant les dimensions des structures et plus précisément  $h_1$  et  $h_2$ . Dans la section suivante nous allons explorer l'impact de la hauteur du réseau sur le gain dû à la localisation dans le but de maximiser sa valeur.

#### 4.3.2. Impact de la hauteur du réseau

Les calculs précédents ont mis en évidence le rôle de  $w_1$  et  $w_2$  sur la réponse d'une biopuce pour une hauteur des structures  $\Delta h=15\text{nm}$ . Dans cette section, nous explorons l'influence de la variation de  $\Delta h$  sur le gain obtenu grâce à la localisation des biomolécules sur le haut des structures. Nous avons donc choisi de jouer sur  $\Delta h$  en variant sa valeur de 5nm à 35nm, ce qui revient à varier les valeurs de  $h_1$  et  $h_2$  (Tableau 4. 2). À chaque fois, le choix du couple  $h_1$  et  $h_2$  a été effectué de manière à ce que la sensibilité d'une biopuce conventionnelle d'épaisseur métallique  $h_1$  ou  $h_2$  reste la même.

$\Delta h$	5	10	15	20	25	30
$h_1$	54.2	51.7	49.2	46.7	44.2	41.7
$h_2$	59.2	61.7	64.2	66.7	69.2	71.7

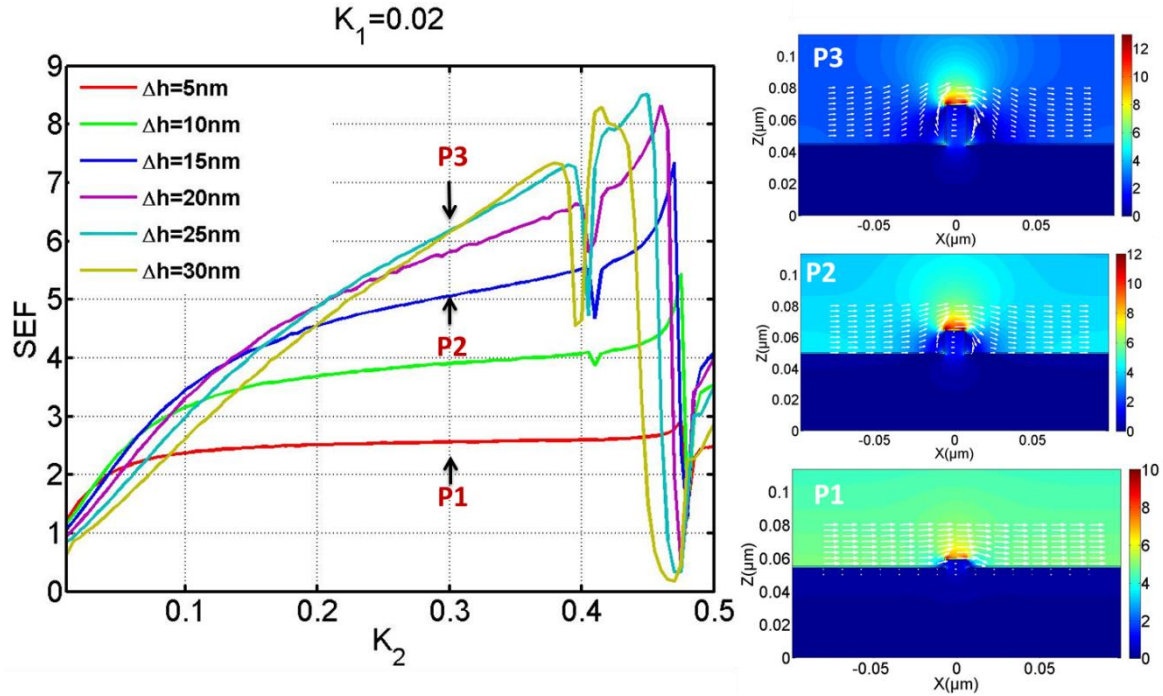
 Tableau 4. 2 : les valeurs du couple  $h_1$  et  $h_2$  associé à chaque  $\Delta h$ 


Figure 4. 14: Courbes de SEF tracées en fonction de  $K_2$  dans le cas de la localisation des biomolécules en haut de la surface. Les calculs sont effectués en variant  $\Delta h$  de 5nm à 35 nm. Les cartes présentent le module de la composante  $z$  du champ électrique  $|E_z|$  correspondant successivement à la configuration P1 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ,  $\Delta h=5$  nm), la configuration P2 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ,  $\Delta h=15$  nm) et la configuration P3 ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.3$ ,  $\Delta h=30$ nm).

Nous avons choisi de fixer  $K_1=0.02$  et de tracer les différentes courbes de SEF en fonction de  $K_2$  pour les différentes valeurs de  $\Delta h$ . Les courbes (figure 4. 14) montrent que la variation de  $\Delta h$  influe sur la valeur du SEF. En effet, pour  $K_2 < 0.1$  l'interaction entre les plasmons localisés (PSL) domine dans ses structures de faibles dimensions : l'augmentation de  $\Delta h$  tend à découpler les PSL en haut de la structure de ceux en bas de la structure, engendrant ainsi une dégradation du gain en terme de SEF.

Cependant, pour  $K_2 > 0.1$ , le couplage entre le plasmon propagatif et les plasmons localisés PP-PSL domine. Par conséquent le SEF augmente au fur et à mesure que nous augmentons  $\Delta h$  et atteint  $\approx 8.5$  pour une configuration ( $K_1=0.02$ ,  $K_2=0.45$ ,  $\Delta h=25$ nm).

Tout d'abord, pour  $\Delta h < 5$  nm le gain engendré par la localisation des molécules en haut de la structure ne dépasse pas 3, étant donné que l'interaction entre le PP qui se propage en bas de la structure n'est pas efficace à cause de la faible hauteur de la structure. Comme on s'y attendait, la cartographie du champ électrique illustrée pour la configuration P1 (Figure 4. 14) montre un confinement du champ sur le haut de la structure ; néanmoins la propagation des plasmons représenté par le vecteur de Poynting n'est pas perturbée par l'existence de la structure. Ensuite, pour  $\Delta h > 10$  nm le SEF augmente considérablement en fonction de  $\Delta h$ . Ceci peut être expliqué par les PSL en haut et en bas de la structure qui sont fortement excités étant donné leurs interactions efficaces avec le PP. Par conséquent le champ électrique associé

à la configuration P2 est nettement plus intense que celui de la configuration P1. Pour  $\Delta h=25$  nm (configuration P3), l'interaction PSL-PP est maximale particulièrement dans les coins inférieurs de la structure comparée aux autres configurations, ce qui induit par la suite un couplage efficace entre les PSL de la même structure. Comme résultat le SEF atteint sa valeur maximale. Finalement pour  $\Delta h > 25$  nm les PSL entre les coins de la surface supérieure et ceux de la surface inférieure se découplent puisque les PSL en haut de la structure sont limités par les propriétés d'absorption qui caractérisent les grandes épaisseurs d'or, donnant ainsi une explication à la dégradation du SEF pour  $\Delta h > 25$  nm. D'une manière générale nous pouvons déduire que la hauteur du réseau présente un paramètre à ne pas négliger pour optimiser le « design » des structures et réaliser le maximum de gain.

#### **4.4. Faisabilité de la localisation des biomolécules**

Malgré le grand intérêt que suscitent les structures métalliques, il existe d'importants défis, le premier est la fabrication des structures dans le domaine nanométrique et deuxièmement, la problématique de la localisation sélective des biomolécules dans des zones précises de la surface. Des approches technologiques de pointe ont permis la localisation des biomolécules par lithographie Dip-pen (Ki-Bum Lee 2002) (Wu et al. 2011) et par microcontact (Xia et al. 1996) ou bien en utilisant des masques (Stamou et al. 2004). Cependant, ces méthodes sont généralement conçues pour une surface plane, donc elles ne sont pas appropriées à la fonctionnalisation sélective des surfaces structurées. Dans ce contexte, quelques méthodes récentes ont été proposées et testées pour effectuer la localisation de biomolécules sur la structure périodique, comme par exemple celles basées sur le blocage des zones non intéressantes de la surface avec un autre matériau comme le  $\text{TiO}_2$  (Feuz, Jönsson et al. 2010) ou bien le  $\text{SiO}_2$  (Kyungjae, Dong Jun et al. 2010) permettant ainsi aux biomolécules de se fixer sélectivement dans les régions les plus sensibles. Récemment, une nouvelle approche (Hoa, Martin et al. 2008) (Hoa et al. 2009) (Feuz, Jonsson et al. 2012) est utilisée par différents groupes de recherche et a prouvé son efficacité. Celle-ci est basée sur un lift-off couplé avec la chimie de surface guidée : à titre d'exemple le poly (éthylène)glycol, bien connu pour repousser les biomolécules et empêcher leur accrochage sur la surface, permettant ainsi de passiver chimiquement certaines zones. Le processus commence par un substrat au-dessus duquel une couche métallique mince est déposée. La résine est ensuite structurée via la lithographie électronique. La surface est métallisée pour former les nanostructures. La première chimie de surface est ensuite appliquée. Elle couvre juste les zones qui ne sont pas déjà couvertes par la résine. Après avoir retiré la résine, une seconde chimie de surface est appliquée pour remplir les zones de surface non couvertes précédemment. Cela permet simultanément la fabrication des réseaux et la fonctionnalisation localement sélective des biomolécules.

#### **Conclusion**

La compréhension approfondie des différents mécanismes de couplage plasmonique qui gouvernent le comportement du champ électrique paraît très utile. En effet, exciter à la fois les modes plasmoniques propagatifs et localisés engendre des modes hybrides et conduit à la création de zones de la biopuce qui se caractérisent par une exaltation du champ électrique. L'intensité du champ local et la distribution spatiale peut être facilement ajusté en variant les

dimensions des nanostructures sans même qu'on soit obligé de changer leur forme. Il apparaît donc possible d'utiliser la distribution du champ comme un guide pour bien repérer la zone parfaite de localisation. Par ailleurs, nous avons démontré que la localisation des biomolécules en particulier en haut, en bas et sur les côtés de la structure conduit à différentes performances de détection. Une normalisation de la réponse de la biopuce par rapport à la surface des biomolécules localisées permet de cerner un peu plus la contribution réelle des biomolécules associées à chaque zone. Le constat le plus frappant est l'existence d'une seule petite fraction de l'ensemble des biomolécules adsorbées dans les zones sensibles qui contribue réellement à la totalité du signal, alors que la majorité ne contribue pas de manière significative. Nos résultats prouvent que la localisation des biomolécules, en particulier, sur les côtés des nano-fentes, elle permet d'atteindre un facteur d'amélioration de sensibilité de 280% alors que sur le haut des nano-pistes, permet d'atteindre un gain important qui dépasse 700%, comparé à une simple distribution uniforme d'une couche biologique. Cette amélioration peut être encore optimisée en variant la hauteur de la structure.

Potentiellement, la stratégie de localisation des biomolécules est un concept qui peut être appliqué à tout type de capteur miniaturisé ; malgré les multiples défis technologiques à surmonter, cette stratégie peut-être cruciale pour mieux tirer profit de la structuration des biopuces et devrait ainsi permettre la détection des biomolécules à l'état de trace.

## Conclusions et perspectives

L'objectif principal de ce travail était d'étudier théoriquement et expérimentalement le potentiel de détection d'une nouvelle génération de biopuces à lecture plasmonique intégrant un réseau 1D structuré. Les travaux présentés dans le cadre de cette thèse démontrent en particulier la possibilité d'employer un film métallique micro-nano structuré, dans la configuration de Kretschmann, comme plateforme de bio-détection. La comparaison avec la réponse d'une biopuce conventionnelle a permis la mise en évidence de la pertinence de ces films structurés pour l'amélioration de la sensibilité à une couche biologique, en exploitant leurs caractéristiques particulières dues à la coexistence du mode plasmon propagatif et du mode plasmon localisé.

Dans la **première partie** introductive, nous avons présenté brièvement les biopuces à lecture plasmonique dans le but de souligner les avantages de la détection plasmonique comparée aux techniques des biopuces, à fluorescence. Nous avons, par la suite, rappelé l'historique des plasmons de surface pour introduire ce phénomène, avec un aperçu sur les différents dispositifs de couplage pour exciter l'onde plasmon de surface. Nous avons présenté différentes techniques expérimentales permettant de concevoir des capteurs capables d'exploiter la résonance de plasmon de surface. Ces capteurs mesurent la réflectivité d'une biopuce composée d'un film métallique uniforme et basée sur la configuration de Kretschmann. Ils fonctionnent soit en mode mono-point permettant de suivre une seule interaction biomoléculaire sur la surface d'une biopuce métallique, soit en mode d'imagerie de plasmon de surface permettant une lecture dynamique, en temps réel et en parallèle pour de nombreuses interactions biomoléculaires. Nous avons mis, par la suite, l'accent sur la limitation des biopuces plasmoniques en terme de sensibilité, ce qui nous conduit à aborder l'état de l'art de différentes techniques, permettant de s'affranchir de cette limitation. Nous nous sommes penchés tout particulièrement sur la structuration 2D de la surface d'une puce offrant la possibilité de combiner les avantages des plasmons localisés et celles des plasmons propagatifs par la simple structuration de la surface d'une biopuce.

La modélisation numérique d'une biopuce est une étape primordiale pour prédire sa réponse et optimiser sa géométrie. **La deuxième partie** est dédiée à la présentation de l'approche numérique qui consiste à l'adaptation d'un modèle numérique efficace et rapide, permettant la résolution des équations de Maxwell. L'originalité de cette méthode provient de l'hybridation entre les deux méthodes classiques FMM et FEM en offrant la possibilité de tirer les avantages de chacune de ces méthodes. Nous avons développé différentes techniques pour optimiser le temps de calcul afin de permettre une étude paramétrique exhaustive du potentiel de cette nouvelle génération de biopuces. Pour l'approche expérimentale, nous avons détaillé les différents types de montages disponibles pour notre équipe, en particulier le dispositif expérimental d'imagerie à résonance de plasmon de surface (IRPS). Ce dispositif se distingue, par rapport à d'autres dispositifs à RPS, par sa capacité à imager chaque point de la surface de la puce et donc permet de cartographier simultanément, et donc dans les mêmes conditions, plusieurs motifs structurés sur cette surface.

**Dans la troisième partie**, la majorité de la présentation a été consacrée à une simulation exhaustive du potentiel de détection des biopuces 2D structurées, en faisant varier plusieurs paramètres géométriques liés aux dimensions du réseau par un balayage allant de la gamme nanométrique au domaine micrométrique. Les résultats obtenus, particulièrement riches, permettent d'évaluer la sensibilité d'environ 360000 configurations possibles. Ceci permet de cartographier le potentiel de détection de cette biopuce à une couche biologique dans l'espace des paramètres du réseau (largeurs des pistes et des fentes). Les résultats obtenus décrivent la transition du régime où le plasmon propagatif domine vers le régime où le plasmon localisé domine. Ils fournissent aussi une vision globale du continuum du nano-et micro-réseau décrit, qui s'avère un précieux outil pour développer des biopuces sensibles et fiables. En effet, la comparaison entre les performances théoriques des biopuces structurées à celle des biopuces conventionnelles basées sur un plasmon purement propagatif nous a conduit à conclure quant à l'importance de la nano-structuration sur l'amélioration de la sensibilité non seulement par rapport à la réponse d'une biopuce conventionnelle mais aussi par rapport à l'effet de la micro-structuration de la surface. L'évolution de la sensibilité est interprétée théoriquement par les différents phénomènes plasmoniques :

\*La dégradation de la sensibilité (% /nm), notamment dans le domaine micrométrique, est due aux bandes interdites du plasmon qui dominant, engendrées par le phénomène de Bragg.

\*Une amélioration qui atteint un facteur de 300% en terme de sensibilité à une couche biologique, et jusqu'à 750% en terme de SFOM dans le domaine nanométrique où les modes plasmons localisés interagissent entre eux.

La validation expérimentale de nos résultats numériques nécessite par la suite le « design », la fabrication et la caractérisation d'un échantillon structuré. D'abord, nous avons conçu un premier échantillon d'une puce structurée qui intègre plusieurs réseaux avec différentes dimensions variant du micromètre vers le nanomètre. Ensuite, l'élaboration de ces puces structurées se fait par lithographie à faisceau d'électrons focalisés. Enfin, nous avons caractérisé à l'aide du banc d'IRPS la réponse des différentes zones structurées. Les nappes de réflectivité angulo-spectrale et les nappes de sensibilité obtenues sont par la suite confrontées aux résultats numériques. Face à la complexité de la fabrication des structures à l'échelle nanométrique, seuls des résultats expérimentaux préliminaires, associés à des dimensions de structuration supérieures à 500 nm, ont pu être obtenus et confirment bien les résultats numériques.

**La quatrième partie** est une démonstration numérique pour valider une approche originale qui consiste à localiser les molécules sondes de manière sélective dans certaines zones spécifiques de la surface structurée, particulièrement celles où le champ électrique est exalté. En effet, nous avons souligné la corrélation spatiale entre l'intensité du champ électrique et la réponse de la biopuce. Nous avons également prouvé qu'un nombre limité de biomolécules participe efficacement dans la sensibilité globale (%/nm). En particulier, la localisation sélective des biomolécules sur le haut des pistes permet d'obtenir un gain extrêmement important.



Nous sommes persuadés que cette preuve de principe, combiner l'avantage de la structuration des biopuces et l'intérêt de la localisation sélective des biomolécules, stimulera des futurs travaux de recherche, afin de promouvoir de nouvelles méthodes de fabrication et de bio-fonctionnalisation. Ceci permettra éventuellement d'ouvrir d'autres perspectives d'améliorations remarquables dans le domaine des biocapteurs plasmoniques.

**Les perspectives** à court et à moyen terme, de ce travail, portent sur l'étude numérique et expérimentale du potentiel de la structuration 3D de la surface de la puce : nous pouvons imaginer des réseaux de trous, de cylindres, de cubes... Nous pensons que ces structures sont capables de coupler plus efficacement les plasmons propagatifs et les plasmons localisés, ce qui pourrait s'accompagner par une exaltation plus intéressante du champ électrique. Ce travail se fait dans le cadre de la thèse de Mitradeep Sarkar.

À long terme, nous envisageons de coupler deux instruments de caractérisation plasmonique : l'IRPS et la spectroscopie Raman, qui permettrait de mieux explorer les propriétés plasmoniques des substrats structurés en visant la détection et l'identification des biomolécules à l'état de traces. Ce travail devrait se faire dans le cadre du projet ANR « PIRANEX ».



# Annexes

## Annexe (1) : Les équations de Maxwell

Cet annexe présente un calcul formel fondé sur les équations de Maxwell de la constante de propagation des plasmons de surface ainsi qu'une démonstration de la nécessité d'un faisceau polarisé TM incident sur l'interface entre un milieu diélectrique et un milieu métallique pour que le plasmon de surface puisse se propager.

Équation de Maxwell dans un milieu non magnétique ( $\mu_r = 1$ )

$$\left\{ \begin{array}{ll} \vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0 & \vec{\nabla} \cdot \vec{H} = 0 \\ \vec{\nabla} \wedge \vec{E} = -\mu_0 \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} & \vec{\nabla} \wedge \vec{H} = \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \end{array} \right. \quad (A.1)$$

En combinant ces équations, nous pouvons en déduire l'équation de propagation du champ magnétique dans un matériau non magnétique:

$$\vec{\nabla}^2 \cdot \vec{H} - \frac{\epsilon_r}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{H}}{\partial t^2} = 0 \quad (A.2)$$

Avec  $c = (\epsilon_0 \cdot \mu_0)^{-1/2}$

Dans le cas d'ondes planes, les champs peuvent s'écrire sous la forme suivant :

$$\begin{aligned} \vec{H} &= \vec{H}_0 \exp i(k_x x + k_z z - \omega t) \\ \vec{E} &= \vec{E}_0 \exp i(k_x x + k_z z - \omega t) \end{aligned} \quad (A.3)$$

Dans ces conditions, les équations de Maxwell deviennent :

$$\left\{ \begin{array}{ll} k_x E_x + k_z E_z = 0 & k_x H_x + k_z H_z = 0 \\ -k_z E_y = \mu_0 \omega H_x & k_z H_y = \epsilon_0 \epsilon_r \omega E_x \\ k_z E_x - k_x E_z = \mu_0 \omega H_y & k_x H_z - k_z H_x = \epsilon_0 \epsilon_r \omega E_y \\ k_x E_y = \mu_0 \omega H_z & k_x H_y = -\epsilon_0 \epsilon_r \omega E_z \end{array} \right. \quad (A.4)$$

De même, l'équation de propagation (A.2) devient :

$$k_x^2 + k_z^2 - \frac{\varepsilon_r \omega^2}{c^2} = 0 \quad (\text{A.5})$$

Nous allons maintenant étudier les conditions de propagation d'une onde évanescente des deux côtés d'une interface entre un milieu 1 de permittivité  $\varepsilon_1$  et un milieu 2 de permittivité  $\varepsilon_2$ .

L'onde se propage selon l'axe des  $x$  donc  $k_x$  est un réel positif et est évanescente selon l'axe des  $z$  donc  $k_z$  est un imaginaire pur ( $k_z = i.k'_z$ )

De plus, dans le milieu 1,  $z$  est négatif donc  $k'_z$  est négatif alors que, dans le milieu 2,  $z$  est positif donc  $k'_z$  est positif.

Sur l'interface ( $z=0$ ) d'après les équations de Maxwell, nous avons une continuité des composantes tangentielles des champs, d'où les relations suivantes :

$$\begin{cases} E_{x,0}^1 \exp i(k_x^1 x - \omega t) = E_{x,0}^2 \exp i(k_x^2 x - \omega t) \\ E_{y,0}^1 \exp i(k_x^1 x - \omega t) = E_{y,0}^2 \exp i(k_x^2 x - \omega t) \\ H_{x,0}^1 \exp i(k_x^1 x - \omega t) = H_{x,0}^2 \exp i(k_x^2 x - \omega t) \\ H_{y,0}^1 \exp i(k_x^1 x - \omega t) = H_{y,0}^2 \exp i(k_x^2 x - \omega t) \end{cases} \quad (\text{A.6})$$

Ces conditions à l'interface nous donnent les relations suivantes :

$$\begin{cases} E_{x,0}^1 = E_{x,0}^2 = E_{x,0} & E_{y,0}^1 = E_{y,0}^2 = E_{y,0} \\ H_{x,0}^1 = H_{x,0}^2 = H_{x,0} & H_{y,0}^1 = H_{y,0}^2 = H_{y,0} \\ k_x^1 = k_x^2 = k_x \end{cases} \quad (\text{A.7})$$

En combinant l'équation (A.7) avec l'équation (A.4) nous obtenons :

$$\begin{cases} k_z^1 E_{z,0}^1 = k_z^2 E_{z,0}^2 = -E_{x,0} & k_z^1 H_{z,0}^1 = k_z^2 H_{z,0}^2 = -k_x H_{x,0} \\ k_z^1 E_{y,0} = k_z^2 E_{y,0} = -\mu_0 \omega H_{x,0} & (k_z^1 / \varepsilon_1) H_{y,0} = (k_z^2 / \varepsilon_2) H_{y,0} = \varepsilon_0 \omega E_{x,0} \\ k_z^1 E_{x,0} - k_x E_{z,0}^1 = k_z^2 E_{x,0} - k_x E_{z,0}^2 = \mu_0 \omega H_{y,0} \\ (k_x H_{z,0}^1 - k_z^1 H_{x,0}) / \varepsilon_1 = (k_x H_{z,0}^2 - k_z^2 H_{x,0}) / \varepsilon_2 = \varepsilon_2 \omega E_{y,0} \\ H_{z,0}^1 = H_{z,0}^2 = (k_x / \mu_0 \omega) E_{y,0} & \varepsilon_1 E_{z,0}^1 = \varepsilon_2 E_{z,0}^2 = -(k_x / \varepsilon_0 \omega) H_{y,0} \end{cases} \quad (\text{A.8})$$

Supposons dans un premier temps  $H_{y,0}$  non nul. Nous déduisons les relations suivantes des 2 première lignes de :

$$\left\{ \begin{array}{l} k_z = k_z^1 = k_z^2 = -\frac{\mu_0 \omega H_{x,0}}{E_{y,0}} \\ E_{z,0} = E_{z,0}^1 = E_{z,0}^2 = -\frac{k_x}{k_z} E_{x,0} \\ H_{z,0} = H_{z,0}^1 = H_{z,0}^2 = -\frac{k_x}{k_z} H_{x,0} \\ H_{y,0} = E_{x,0} = 0 \end{array} \right.$$

(A.9)

L'autre relation contenant  $E_{y,0}$  provenant de la (A.8) devient :

$$(k_x H_{z,0} - k_z H_{x,0})/\varepsilon_1 = (k_x H_{z,0} - k_z H_{x,0})/\varepsilon_2 = \varepsilon_0 \omega E_{y,0}$$

(A.10)

Or, sachant que  $\varepsilon_1 \neq \varepsilon_2$  et que  $E_{y,0} \neq 0$ , cette équation est sans solution. La propagation d'une onde de surface nécessite donc que  $E_{y,0}$  soit nul. Une onde de surface ne peut donc pas être excitée par une polarisation TE. Cela explique le premier point : **un plasmon de surface est excité par une polarisation TM**

Dorénavant, nous supposons que  $E_{y,0} = 0$ . Cela nous conduit à l'équation caractéristique d'une onde de surface entre deux milieux :

$$\frac{k_z^1}{k_z^2} = \frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2}$$

(A.11)

Comme expliqué précédemment, sachant que  $k_z = i \cdot k_z'$  et que  $k_z'^1 = k_z'^2$  sont de signes opposés, cela implique que les permittivités des deux milieux doivent elles aussi être de signes opposés. Cela explique le deuxième point : **un plasmon de surface ne peut être excité qu'entre un milieu métallique et un milieu diélectrique.**

Nous allons maintenant calculer la composante longitudinale  $k_x$  du vecteur d'onde de l'onde de surface à partir de l'équation et des conditions aux limites à l'interface.

$$\left\{ \begin{array}{l} k_x^2 = \varepsilon_1 \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 - (k_z^1)^2 \\ k_x^2 = \varepsilon_2 \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 - (k_z^2)^2 \end{array} \right.$$

(A.12)

En combinant cette équation avec la relation, nous obtenons la valeur de  $k_{SPR}$ .

$$K_{SPR}^2 = \left( \frac{\varepsilon_m \cdot \varepsilon_d}{\varepsilon_m + \varepsilon_d} \right) \cdot \left( \frac{\omega}{c} \right)^2$$

(A.13)

avec  $\varepsilon_m = \varepsilon_1$  la permittivité du milieu métallique et  $\varepsilon_d = \varepsilon_2$  la permittivité du diélectrique.

Pour les métaux, la permittivité est complexe et peut s'écrire sous la forme

$\varepsilon_m = \varepsilon_{mr} + \varepsilon_{mi}$ , Dans le cas où  $|\varepsilon_{mr}| \gg \varepsilon_{mi}$ , nous pouvons approximer  $k_{SPR}$  de la manière suivante

$$K_{SPR} = \sqrt{\frac{\varepsilon_{mr} \cdot \varepsilon_d}{\varepsilon_{mr} + \varepsilon_d}} \cdot \frac{\omega}{c} \quad (A.14)$$

## Références

- Alleyne, C. J. (2010). "Enhancing sensitivity for surface plasmon resonance using periodic structures and spectro-angular image analysis." Thèse.
- Alleyne, C. J., *et al.* (2007). "Enhanced SPR sensitivity using periodic metallic structures." Opt. Express **15**(13): 8163-8169.
- Anker, J. N., *et al.* (2008). "Biosensing with plasmonic nanosensors." Nat Mater **7**(6): 442-453.
- Bardin, F., *et al.* (2009). "Surface plasmon resonance spectro-imaging sensor for biomolecular surface interaction characterization." Biosensors and Bioelectronics **24**(7): 2100-2105.
- Barnes, W. L., *et al.* (2003). "Surface plasmon subwavelength optics." Nature **424**(6950): 824-830.
- Barnes, W. L., *et al.* (1996). "Physical origin of photonic energy gaps in the propagation of surface plasmons on gratings." Physical Review B **54**(9): 6227-6244.
- Barnes, W. L. D., Alain Ebbesen, Thomas W. (2003). "Surface plasmon subwavelength optics." Nature.
- Bassil, N., *et al.* (2003). "One hundred spots parallel monitoring of DNA interactions by SPR imaging of polymer-functionalized surfaces applied to the detection of cystic fibrosis mutations." Sensors and Actuators B: Chemical **94**(3): 313-323.
- Bassil, N., *et al.* (2003). "One hundred spots parallel monitoring of DNA interactions by SPR imaging of polymer-functionalized surfaces applied to the detection of cystic fibrosis mutations." Sensors and Actuators B: Chemical **94**(3): 313-323.
- Benahmed, A. J., *et al.* (2007). "Bandgap-assisted surface-plasmon sensing." Appl. Opt. **46**(16): 3369-3375.
- Brockman, J. M. (2000). "Surface plasmon resonance imaging measurements of ultrathin organic films." Annu. Rev. Phys. Chem. **41**.
- Byun, K., *et al.* (2008). "Sensitivity Enhancement of Surface Plasmon Resonance Imaging Using Periodic Metallic Nanowires." J. Lightwave Technol. **26**(11): 1472-1478.
- Byun, K. M., *et al.* (2009). "Effect of target localization on the sensitivity of a localized surface plasmon resonance biosensor based on subwavelength metallic nanostructures." J. Opt. Soc. Am. A **26**(4): 1027-1034.
- Byun, K. M., *et al.* (2007). "Experimental study of sensitivity enhancement in surface plasmon resonance biosensors by use of periodic metallic nanowires." Opt. Lett. **32**(13): 1902-1904.
- Chamtouri, M. (2009). "Analyse génétique par résonance de plasmons de surface." Master.
- Chinowsky, T. M., *et al.* (2003). "Performance of the Spreeta 2000 integrated surface plasmon resonance affinity sensor." Sensors and Actuators B: Chemical **91**(1-3): 266-274.
- Cloarec, J.-P. (2011). "Silver films passivated with biotinylated bovine serum albumin (biotin-BSA): An improved compromise between biofunctionalization,

- sensitivity and spatial resolution for surface plasmon resonance imaging (SPRI) biosensors." Biosensors and Bioelectronics.
- Cotter, N. P. K., *et al.* (1995). "Scattering-matrix approach to multilayer diffraction." J. Opt. Soc. Am. A **12**(5): 1097-1103.
- de Bruijn, H. E., *et al.* (1992). "Choice of metal and wavelength for surface-plasmon resonance sensors: some considerations." Appl. Opt. **31**(4): 440-441-442.
- Dossou, K., *et al.* (2005). "Analysis of diffraction gratings by using an edge element method." J. Opt. Soc. Am. A **22**(2): 278-288.
- Dostálek, J., *et al.* (2007). "Spectroscopy of Bragg-scattered surface plasmons for characterization of thin biomolecular films." Opt. Lett. **32**(20): 2903-2905.
- Dostálek, J., *et al.* (2005). "Rich information format surface plasmon resonance biosensor based on array of diffraction gratings." Sensors and Actuators B: Chemical **107**(1): 154-161.
- E.D., P. "Handbook of Optical Constants of Solids." Academic Press.
- Ebbesen, T. W., *et al.* (1998). "Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays." Nature **391**(6668): 667-669.
- Elhadj, S., *et al.* (2004). "Optical Properties of an Immobilized DNA Monolayer from 255 to 700 nm." Langmuir **20**(13): 5539-5543.
- Fano, U. (1956). "Atomic Theory of Electromagnetic Interactions in Dense Materials." Physical Review **103**(5): 1202-1218.
- Feuz, L., *et al.* (2012). "Material-Selective Surface Chemistry for Nanoplasmonic Sensors: Optimizing Sensitivity and Controlling Binding to Local Hot Spots." Nano Letters **12**(2): 873-879.
- Feuz, L., *et al.* (2010). "Improving the Limit of Detection of Nanoscale Sensors by Directed Binding to High-Sensitivity Areas." ACS Nano **4**(4): 2167-2177.
- Galarreta, B. C., *et al.* (2010). "Hexagonal Array of Gold Nanotriangles: Modeling the Electric Field Distribution." The Journal of Physical Chemistry C **114**(47): 19952-19957.
- Gao, H., *et al.* (2008). "Screening plasmonic materials using pyramidal gratings." Proceedings of the National Academy of Sciences **105**(51): 20146-20151.
- Garet, G. N., *et al.* (2002). "Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasmons." Measurement Science and Technology **13**(12): 2038.
- Garg, R. (2008). "Analytical and Computational Methods in Electromagnetics." Livre.
- Haes, A. J., *et al.* (2004). "A unified view of propagating and localized surface plasmon resonance biosensors." Analytical and Bioanalytical Chemistry **379**(7): 920-930.
- Hao, E., *et al.* (2004). "Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers." The Journal of Chemical Physics **120**(1): 357-366.
- Hegnerová, K., *et al.* (2009). "Surface plasmon resonance biosensors for detection of Alzheimer disease biomarker." Sensors and Actuators B: Chemical **139**(1): 69-73.
- Herminjard, S., *et al.* (2009). "Surface Plasmon Resonance sensor showing enhanced sensitivity for CO<sub>2</sub> detection in the mid-infrared range." Opt. Express **17**(1): 293-303.
- Hirokazu, K., *et al.* (2006). "SPR sensor signal amplification based on dye-doped polymer particles." Science and Technology of Advanced Materials **7**(2): 150.

- Ho, X. D., *et al.* (2009). "Enhanced SPR response from patterned immobilization of surface bioreceptors on nano-gratings." Biosensors and Bioelectronics **24**(10): 3043-3048.
- Ho, X. D., *et al.* (2008). "Fabrication and characterization of patterned immobilization of quantum dots on metallic nano-gratings." Biosensors and Bioelectronics **24**(4): 970-975.
- Ho, X. D., *et al.* (2009). "Rigorous Coupled-Wave Analysis of Surface Plasmon Enhancement from Patterned Immobilization on Nanogratings." Journal of Sensors **2009**.
- Homola, J. (2008). "Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species." Chemical Reviews **108**(2): 462-493.
- Homola, J., *et al.* (1999). "Surface plasmon resonance sensors: review." Sensors and Actuators B: Chemical **54**(1-2): 3-15.
- Hooper, I. R., *et al.* (2002). "Dispersion of surface plasmon polaritons on short-pitch metal gratings." Physical Review B **65**(16): 165432.
- Hottin, J. (2009). "Caractérisations optiques et dynamiques d'interactions biomoléculaires de surface- application aux biopuces à ADN." Université paris XI.
- Hottin, J., *et al.* (2007). "Plasmonic DNA: Towards Genetic Diagnosis Chips." Plasmonics **2**(4): 201-215.
- Huang, C., *et al.* (2012). "Gold nanoring as a sensitive plasmonic biosensor for on-chip DNA detection." Applied Physics Letters **100**(17): 173114-173114.
- Hugonin, J. P., *et al.* (2008). "Hybridization of electromagnetic numerical methods through the G-matrix algorithm." Opt. Lett. **33**(14): 1590-1592.
- Jain, P. K., *et al.* (2008). "Noble Metal Nanoparticle Pairs: Effect of Medium for Enhanced Nanosensing." Nano Letters **8**(12): 4347-4352.
- Jain, P. K., *et al.* (2010). "Plasmonic coupling in noble metal nanostructures." Chemical Physics Letters **487**(4-6): 153-164.
- Jain, P. K., *et al.* (2006). "Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine." The Journal of Physical Chemistry B **110**(14): 7238-7248.
- Jin, J.-M. (1993). "The Finite Element Method in Electromagnetics " Livre.
- Johnson, P. B., *et al.* (1972). "Optical Constants of the Noble Metals." Physical Review B **6**(12): 4370-4379.
- Junesch, J., *et al.* (2012). "Optical Properties of Nanohole Arrays in Metal-Dielectric Double Films Prepared by Mask-on-Metal Colloidal Lithography." ACS Nano **6**(11): 10405-10415.
- Jung, L. S., *et al.* (1998). "Quantitative Interpretation of the Response of Surface Plasmon Resonance Sensors to Adsorbed Films." Langmuir **14**(19): 5636-5648.
- Kelf, T. A., *et al.* (2006). "Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids." Physical Review B **74**(24): 245415.
- Ki-Bum Lee, S.-J. P., Chad A. Mirkin, Jennifer C. Smith, Milan Mrksich (2002). "Protein Nanoarrays Generated By Dip-Pen Nanolithography." Science **295**: 1702-1705.



- Kim, D. (2006). "Effect of resonant localized plasmon coupling on the sensitivity enhancement of nanowire-based surface plasmon resonance biosensors." J. Opt. Soc. Am. A **23**(9): 2307-2314.
- Kim, K., *et al.* (2006). "Nanowire-based enhancement of localized surface plasmon resonance for highly sensitive detection: a theoretical study." Opt. Express **14**(25): 12419-12431.
- Kim, N.-H., *et al.* (2011). "Correlation analysis between plasmon field distribution and sensitivity enhancement in reflection- and transmission-type localized surface plasmon resonance biosensors." Appl. Opt. **50**(25): 4982-4988.
- Kottmann, J. P., *et al.* (2001). "Plasmon resonances of silver nanowires with a nonregular cross section." Physical Review B **64**(23): 235402.
- Kretschmann, E., *et al.* (1968). "Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light." Z. Naturforsch. A **23**: 2135.
- Kyujung, K., *et al.* (2009). "Localized surface plasmon resonance detection of layered biointeractions on metallic subwavelength nanogratings." Nanotechnology **20**(31): 315501.
- Kyungjae, M., *et al.* (2010). "Target-Localized Nanograting-Based Surface Plasmon Resonance Detection toward Label-free Molecular Biosensing." Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of **16**(4): 1004-1014.
- Lalanne, P., *et al.* (1996). "Highly improved convergence of the coupled-wave method for TM polarization." J. Opt. Soc. Am. A **13**(4): 779-784.
- Lecaruyer, P., *et al.* (2007). "Metallic film optimization in a surface plasmon resonance biosensor by the extended Rouard method." Appl. Opt. **46**(12): 2361-2369.
- Lecaruyer, P., *et al.* (2006). "Generalization of the Rouard method to an absorbing thin-film stack and application to surface plasmon resonance." Appl. Opt. **45**(33): 8419-8423.
- Lehmann, F., *et al.* (2003). "Fabrication of sub-10-nm Au-Pd structures using 30 keV electron beam lithography and lift-off." Microelectronic Engineering **65**(3): 327-333.
- Levene, M. J., *et al.* (2003). "Zero-Mode Waveguides for Single-Molecule Analysis at High Concentrations." Science **299**(5607): 682-686.
- Li, L., *et al.* (1993). "Convergence of the coupled-wave method for metallic lamellar diffraction gratings." J. Opt. Soc. Am. A **10**(6): 1184-1189.
- Liedberg, B., *et al.* (1995). "Biosensing with surface plasmon resonance — how it all started." Biosensors and Bioelectronics **10**(8): i-ix.
- Lyon, L. A., *et al.* (1998). "Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance Immunosensing." Analytical Chemistry **70**(24): 5177-5183.
- Lyon, L. A., *et al.* (1999). "Surface plasmon resonance of colloidal Au-modified gold films." Sensors and Actuators B: Chemical **54**(1–2): 118-124.
- Maillart, E., *et al.* (2004). "Versatile analysis of multiple macromolecular interactions by SPR imaging: application to p53 and DNA interaction." Oncogene **23**(32): 5543-5550.
- Malic, L., *et al.* (2009). "Nanoimprinted plastic substrates for enhanced surface plasmon resonance imaging detection." Opt. Express **17**(22): 20386-20392.

- Malic, L., *et al.* (2007). "Enhanced surface plasmon resonance imaging detection of DNA hybridization on periodic gold nanoposts." Opt. Lett. **32**(21): 3092-3094.
- Mannelli, I., *et al.* (2006). "Surface plasmon resonance imaging (SPRI) system and real-time monitoring of DNA biochip for human genetic mutation diagnosis of DNA amplified samples." Sensors and Actuators B: Chemical **119**(2): 583-591.
- Miura, N., *et al.* (2003). "Highly sensitive and selective surface plasmon resonance sensor for detection of sub-ppb levels of benzo[a]pyrene by indirect competitive immunoreaction method." Biosensors and Bioelectronics **18**(7): 953-959.
- Moharam, M. G., *et al.* (1995). "Formulation for stable and efficient implementation of the rigorous coupled-wave analysis of binary gratings." J. Opt. Soc. Am. A **12**(5): 1068-1076.
- Moharam, M. G., *et al.* (1995). "Stable implementation of the rigorous coupled-wave analysis for surface-relief gratings: enhanced transmittance matrix approach." J. Opt. Soc. Am. A **12**(5): 1077-1086.
- Nakkach, M. (2012). "Imagerie multidimensionnelle en mode de résonance de plasmons de surface de structures de biopuces : expérience et modélisation." Thèse.
- Nakkach, M., *et al.* (2010). "Angulo-spectral surface plasmon resonance imaging of nanofabricated grating surfaces." Opt. Lett. **35**(13): 2209-2211.
- Nehl, C. L., *et al.* (2006). "Optical Properties of Star-Shaped Gold Nanoparticles." Nano Letters **6**(4): 683-688.
- Nelson, B. P., *et al.* (2000). "Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA and RNA Hybridization Adsorption onto DNA Microarrays." Analytical Chemistry **73**(1): 1-7.
- Otto, A. (1968). "Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection." Zeitschrift für Physik A Hadrons and Nuclei **216**(4): 398-410.
- Piliarik, M., *et al.* (2009). "Surface plasmon resonance (SPR) sensors: approaching their limits?" Opt. Express **17**(19): 16505-16517.
- Piliarik, M., *et al.* (2011). "Local refractive index sensitivity of plasmonic nanoparticles." Opt. Express **19**(10): 9213-9220.
- Piliarik, M., *et al.* (2009). "High-throughput SPR sensor for food safety." Biosensors and Bioelectronics **24**(5): 1399-1404.
- Piliarik, M., *et al.* (2009). "Compact and low-cost biosensor based on novel approach to spectroscopy of surface plasmons." Biosensors and Bioelectronics **24**(12): 3430-3435.
- Pines, D. (1956). "Collective Energy Losses in Solids." Reviews of Modern Physics **28**(3): 184-198.
- Pitarke, J. M., *et al.* (2007). "Theory of surface plasmons and surface-plasmon polaritons." Reports on Progress in Physics **70**(1): 1.
- Rindzevicius, T., *et al.* (2005). "Plasmonic Sensing Characteristics of Single Nanometric Holes." Nano Letters **5**(11): 2335-2339.
- Ritchie, R. H. (1957). "Plasma Losses by Fast Electrons in Thin Films." Physical Review **106**(5): 874-881.
- Roh, S., *et al.* (2010). Infrared Surface Plasmon Resonance on Subwavelength Periodic Metallic Gratings in Fiber-Optic Sensors, Optical Society of America.

- Rouard (1956). "Sur l'énergie absorbée dans les couches minces solides." Le journal de physique et le radium **17**: 466.
- Schiebener, P., *et al.* (1990). "Erratum: Refractive index of water and steam as function of wavelength, temperature and density." Journal of Physical and Chemical Reference Data **19**(6): 1617-1617.
- Schröter, U., *et al.* (1999). "Grating couplers for surface plasmons excited on thin metal films in the Kretschmann-Raether configuration." Physical Review B **60**(7): 4992-4999.
- Sherry, L. J., *et al.* (2005). "Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy of Single Silver Nanocubes." Nano Letters **5**(10): 2034-2038.
- Sherry, L. J., *et al.* (2006). "Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy of Single Silver Triangular Nanoprisms." Nano Letters **6**(9): 2060-2065.
- Silberstein, E. (2002). "Généralisation de la méthode modale de Fourier aux problèmes de diffraction en optique intégrée. Application aux convertisseurs modaux par ingénierie des modes de Bloch." Thèse tel-00003101.
- Spadavecchia, J., *et al.* (2009). "New cysteamine based functionalization for biochip applications." Sensors and Actuators B: Chemical **143**(1): 139-143.
- Stamou, D., *et al.* (2004). "Site-Directed Molecular Assembly on Templates Structured with Electron-Beam Lithography." Langmuir **20**(9): 3495-3497.
- Stemmler, I., *et al.* (1999). "Compact surface plasmon resonance-transducers with spectral readout for biosensing applications." Sensors and Actuators B: Chemical **54**(1-2): 98-105.
- Stewart, M. E., *et al.* (2008). "Nanostructured Plasmonic Sensors." Chemical Reviews **108**(2): 494-521.
- Tan, W. C., *et al.* (1999). "Flat surface-plasmon-polariton bands and resonant optical absorption on short-pitch metal gratings." Physical Review B **59**(19): 12661-12666.
- Taylor, A. D., *et al.* (2006). "Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel SPR sensor." Biosensors and Bioelectronics **22**(5): 752-758.
- Telezhnikova, O., *et al.* (2006). "New approach to spectroscopy of surface plasmons." Opt. Lett. **31**(22): 3339-3341.
- Thirstrup, C., *et al.* (2005). "Data analysis for surface plasmon resonance sensors using dynamic baseline algorithm." Sensors and Actuators B: Chemical **106**(2): 796-802.
- Vries de, E. F. A., *et al.* (1994). "Nucleic acid detection with surface plasmon resonance using cationic latex." Biosensors and Bioelectronics **9**(7): 509-514.
- Wang, H., *et al.* (2006). "Nanorice: A Hybrid Plasmonic Nanostructure." Nano Letters **6**(4): 827-832.
- Wegner, G. J., *et al.* (2003). "Fabrication of Histidine-Tagged Fusion Protein Arrays for Surface Plasmon Resonance Imaging Studies of Protein-Protein and Protein-DNA Interactions." Analytical Chemistry **75**(18): 4740-4746.
- Wood, R. W. (1902). "On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum." Proceedings of the Physical Society of London **18**(1): 269.

- Wu, C.-C., *et al.* (2011). "Strategies for Patterning Biomolecules with Dip-Pen Nanolithography." Small **7**(8): 989-1002.
- Wu, C.-M., *et al.* (2004). "Sensitivity-tunable optical sensors based on surface plasmon resonance and phase detection." Opt. Express **12**(15): 3509-3514.
- Xia, Y., *et al.* (1996). "Non-Photolithographic Methods for Fabrication of Elastomeric Stamps for Use in Microcontact Printing." Langmuir **12**(16): 4033-4038.
- Yu, F., *et al.* (2006). "Simultaneous Excitation of Propagating and Localized Surface Plasmon Resonance in Nanoporous Gold Membranes." Analytical Chemistry **78**(20): 7346-7350.
- Zhang, D., *et al.* (2007). "Investigation of the sensitivity of H-shaped nano-grating surface plasmon resonance biosensors using rigorous coupled wave analysis." Applied Physics A: Materials Science & Processing **89**(2): 407-411.
- Zynio, S., *et al.* (2002). "Bimetallic Layers Increase Sensitivity of Affinity Sensors Based on Surface Plasmon Resonance." Sensors **2**(2): 62-70.

## Résumé

Malgré leurs contribution dans plusieurs domaines, les biopuces à lecture plasmonique conventionnelles basées sur l'utilisation d'un film métallique plan d'or, sont limitées en terme de sensibilité surtout quand il s'agit de détecter des molécules de faible masse molaire à l'état de trace. Dans ce cadre, nous étudions numériquement et expérimentalement le potentiel de détection d'interactions biomoléculaires d'une nouvelle génération de biopuces à lecture plasmonique intégrant un film métallique micro-nano-structurée en réseau rectangulaire 1D. L'étude numérique développée met en œuvre une méthode hybride, basée sur la combinaison de deux méthodes classiques : la méthode des éléments finis et la méthode modale de Fourier. Grâce à ce nouvel outil numérique, nous présentons une cartographie exhaustive du potentiel de détection d'une couche biologique, en variant les paramètres de la structuration liés aux dimensions du réseau. La réponse de la biopuce à l'accrochage de biomolécules est ensuite interprétée théoriquement par les différents phénomènes plasmoniques notamment les «points chauds» et les bandes plasmoniques interdites. Nos calculs soulignent l'importance de l'exploitation du confinement de la lumière à travers la structuration sublongueur d'onde des surfaces plasmoniques. Ceci permet non seulement d'optimiser les paramètres géométriques afin d'améliorer la sensibilité vis-à-vis de la réponse d'une biopuce conventionnelle, mais aussi de mettre en évidence la transition entre le régime où les plasmons propagatifs dominant et le régime où les plasmons localisés dominant. De nouvelles figures de mérite sont introduites pour évaluer les performances des biopuces structurées. Cette étude montre également que de nouvelles opportunités pour améliorer davantage la biosensibilité sont offertes, si la localisation de biomolécules peut être effectuée dans les régions où le champ électrique est amplifié et confiné.

Mots-clés: résonance de plasmon de surface, plasmons propagatifs, plasmons localisés, biocapteurs, micro-nano-structuration, modélisation, figure de mérite

## Abstract

Surface plasmons resonance imaging with continuous thin metallic films have become a central tool for the study of biomolecular interactions. However, in order to extend the field of applications of surface plasmons resonance systems to the trace detection of biomolecules having low molecular weight, a change in the plasmonic sensing methodology is needed.

In this study, we investigate theoretically and experimentally the sensing potential of 2D nanoand micro- ribbon grating structuration on the surface of Kretschmann-based surface plasmon resonance biosensors when they are used for detection of biomolecular binding events. Numerical simulations were carried out by employing a fast and novel model based on the hybridization of two classical methods, the Fourier Modal Method and the Finite Element Method. Our calculations confirm the importance of light manipulation by means of structuration of the plasmonic thin film surfaces on the nano- and micro- scales. Not only does it highlight the geometric parameters that allow the sensitivity enhancement, and associated figures of merit, compared with the response of the conventional surface plasmon resonance biosensor based on a flat surface, but it also describes the transition from the regime where the propagating surface plasmon mode dominates to the regime where the localized surface plasmon mode dominates. An exhaustive mapping of the biosensing potential of the nano- and micro- structured biosensors surface is presented, varying the structural parameters related to the ribbon grating dimensions. New figures of merit are introduced to evaluate the performance of the structured biosensors. The structuration also leads to the creation of regions on biosensor chips that are characterized by strongly enhanced electromagnetic fields. New opportunities for further improving the bio-sensitivity are offered if localization of biomolecules can be carried out in these regions of high electromagnetic fields enhancement and confined.

**Keywords:** surface plasmon resonance, propagating plasmons, localized surface plasmons, biosensors, micro-nano-structuration, modeling, figure of merit.